



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **REGENERAÇÃO DE DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS COM PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE(EMDOGAIN®)-ESTUDO RETROSPETIVO**

Trabalho submetido por  
**Jorge Miguel Vagarinho Dias**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**outubro de 2017**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **REGENERAÇÃO DE DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS COM PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE(EMDOGAIN®)-ESTUDO RETROSPETIVO**

Trabalho submetido por  
**Jorge Miguel Vagarinho Dias**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Mestre Alexandre Miguel Pereira Oliveira Santos**

**outubro de 2017**



“Normality is a paved road: It’s comfortable to walk, but no flowers grow on it”

*Vincent Van Gogh*

À minha irmã, que todos os dias me dá a motivação necessária para ser o melhor  
exemplo possível.



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Mestre Alexandre Santos, por me ter fascinado pelo mundo da Periodontologia, por me sugerir fazer este trabalho de investigação e me ter acompanhado e ajudado nestes últimos meses.

A todos os docentes que me acompanharam ao longo do meu percurso académico, que me ensinaram tudo aquilo que sei, com uma paixão inigualável, e por despertarem em mim a vontade de querer aprender mais.

Aos meus pais, Fátima e Jorge, por estarem sempre presentes e sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas. Por me darem todas as oportunidades e possibilidades que fizeram de mim o que sou hoje. Por nunca desistirem de mim e mostrarem incondicionalmente o carinho e orgulho que têm por mim. Apenas um obrigado não chega, mas começo por este. Obrigado!

À minha irmã, Patrícia, pela honestidade e sinceridade que tem para comigo constantemente. És mais do que aquilo que pensas ser. É um grande orgulho poder ter-te como irmã. Não tenhas medo de tropeçar, o mano vai lá estar para te apanhar.

Aos meus avós, que me apoiaram ao longo da minha vida. Por me ouvirem sempre que preciso de desabafar. Por serem mais quatro “pais” para além dos meus pais.

Aos meus amigos de uma vida, alguns desde os primeiros passos, outros desde os primeiros dias de escola, por todo o apoio, por esta caminhada que fizemos juntos, por todas as aventuras que tivemos, por este crescimento conjunto. Apesar de não estarmos sempre juntos, continuamos unidos como sempre.

Aos meus amigos da Egas Moniz, quero agradecer todos os momentos de festa, todas as alegrias, todas as vivências partilhadas nesta “casa” que nos viu crescer. Ninguém, mais do que eles, compreende o misto de emoções que é acabar esta etapa da vida.

A todos os funcionários desta “mui nobre academia” Egas Moniz, em particular os da Farmácia da Clínica Dentária Egas Moniz, que desde o primeiro dia foram incansáveis a ajudar em tudo o que estava ao seu alcance.

**E viva a Medicina Dentária!**





## RESUMO

**Introdução:** A perda de suporte ósseo alveolar é um sinal que caracteriza a doença periodontal. É considerada uma sequela anatômica da propagação no sentido apical da doença periodontal. A cirurgia periodontal regenerativa engloba técnicas que estão vocacionadas para a reprodução dos tecidos periodontais, como o osso. A utilização de compostos biológicos como as proteínas derivadas da matriz do esmalte, com o nome comercial Emdogain® baseia-se na capacidade desta em acelerar o processo de formação da matriz extracelular e diferenciação celular. O tratamento de defeitos infra-ósseos com proteínas derivadas da matriz do esmalte resulta na formação de novo ligamento periodontal, novo cimento e novo osso alveolar.

**Objetivos:** O objetivo deste estudo é avaliar os resultados clínicos e radiográficos, resultantes da cirurgia regenerativa com Emdogain®.

**Materiais e métodos:** Neste estudo foram avaliados os dados clínicos de doentes periodontais, cuja terapia cirúrgica regenerativa foi a aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte. 13 doentes, resultando num total de 21 defeitos infra-ósseos, foram acompanhados durante um período de 12 meses, tendo a sua situação clínica, pré e pós-cirúrgica, sido avaliada em dois tempos (“baseline” e 12 meses). Os dados clínicos foram depois reunidos por um único observador.

**Resultados:** Foi obtida evidência radiográfica de preenchimento do defeito infra-ósseo nos dois grupos de estudo, doentes tratado apenas com Emdogain® ( $2,33 \pm 1,732\text{mm}$ ) e nos doentes tratados com Emdogain® conjugado com um material de enxerto ósseo aloplástico ( $3,50 \pm 1,269\text{mm}$ ). Melhorias relativamente à profundidade de sondagem foram também obtidas ( $1,50 \pm 1,851\text{mm}$  e  $1,53 \pm 1,732$  para cada grupo respetivamente).

**Conclusão:** Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de estudo, que justifique a conjugação de um material de enxerto ósseo ao Emdogain®.

**Palavras-chave:** cirurgia periodontal regenerativa, proteínas derivadas da matriz do esmalte, Emdogain®, defeitos infra-ósseos



## ABSTRACT

**Introduction:** The loss of alveolar bone support is a sign of periodontal disease. It is considered an anatomical manifestation of propagation of periodontal disease in the apical. Regenerative periodontal surgery encompasses techniques that are directed towards the reproduction of periodontal tissues, such as bone. The use of biological compounds like enamel matrix derivative proteins, under the trade name Emdogain®, is based on the ability to accelerate the process of extracellular matrix formation and cell differentiation. Treatment of infra-bony defects with enamel matrix derivative proteins results in formation of new periodontal ligament, new cement and new alveolar bone.

**Objectives:** The objective of this study is to evaluate the clinical and radiographic outcomes, resulting from regenerative surgery with Emdogain®.

**Materials and methods:** In this study was evaluated the clinical data referring to periodontal patients, in which the regenerative periodontal therapy was the application of enamel matrix derivative proteins. 13 patients, resulting in a total of 21 intra-bony defects, were monitored for a period of 12 months, and their clinical situation, pre and post-surgical, was evaluated in two moments (baseline and 12 months). Clinical data were then gathered by a single observer.

**Results:** Radiographic evidence of infra-bony defects filling was obtained in both study groups, those treated with Emdogain® alone ( $2,33 \pm 1,732\text{mm}$ ), and Emdogain® combined with an alloplastic bone graft material ( $3,50 \pm 1,269\text{mm}$ ). Improvements to the probing depth were also obtained ( $1,50 \pm 1,851\text{mm}$  and  $1,53 \pm 1,732\text{mm}$  for each group respectively).

**Conclusion:** There were no statistically significant differences between the two study groups, that justify the add of a bone graft material to Emdogain®.

**Key-words:** regenerative periodontal surgery, enamel matrix derivative proteins, Emdogain®, infra-bony defects.

## ÍNDICE

<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>Página 13</b>
1. Doença periodontal.....	Página 13
1.1. Anatomia dos defeitos infra-ósseos.....	Página 14
2. Cirurgia Periodontal Regenerativa.....	Página 16
2.1. Abordagens Regenerativas.....	Página 16
2.1.1. Regeneração Tecidual Guiada.....	Página 17
2.1.2. Materiais de Enxerto ósseo.....	Página 18
3. Proteínas derivadas da Matriz do Esmalte.....	Página 18
3.1. Características das PDME.....	Página 19
3.2. Origem e composição das PDME.....	Página 20
3.3. Funcionamento das PDME.....	Página 22
3.3.1. Cimentogénese.....	Página 22
3.3.2. Ligamentogénese.....	Página 24
3.3.3. Osteogénese.....	Página 25
4. Técnica Cirúrgica.....	Página 26
4.1. Técnica para uso de Emdogain® .....	Página 26
4.2. Técnicas cirúrgicas minimamente invasivas.....	Página 27
4.2.1. Cirurgia minimamente invasiva.....	Página 27
4.2.2. Retalhos de preservação da papila.....	Página 27
4.2.3. Técnica cirúrgica minimamente invasiva.....	Página 29
4.2.4. Técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada.....	Página 29
4.3. Escolha da técnica cirúrgica.....	Página 31
5. Conjugação de PDME com materiais de enxerto ósseo.....	Página 34
5.1. PDME e enxerto ósseo autógeno.....	Página 36
5.2. PDME e enxerto ósseo alógeno.....	Página 37
5.3. PDME e enxerto ósseo xenógeno.....	Página 38
5.4. PDME e enxerto ósseo aloplástico.....	Página 39
6. Complicações pós-operatórias.....	Página 40
6.1. Fatores que influenciam os resultados da cirurgia.....	Página 41
6.1.1. Fatores associados ao doente.....	Página 41
6.1.2. Fatores associados ao defeito ósseo.....	Página 43
7. Evidência científica do tema.....	Página 44

<b>II. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>Página 47</b>
1. Considerações éticas.....	Página 47
2. Local do estudo.....	Página 47
3. Tipo de estudo.....	Página 47
4. Amostra do estudo.....	Página 47
5. Estudo.....	Página 47
5.1.Objetivos.....	Página 47
5.2.Amostra.....	Página 48
5.3.Critérios de inclusão.....	Página 48
5.4.Critérios de exclusão.....	Página 49
5.5.Procedimentos clínicos.....	Página 49
5.6.Material.....	Página 50
5.7.Calibração do observador.....	Página 50
6. Variáveis analisadas.....	Página 50
7. Avaliação radiográfica.....	Página 51
8. Análise estatística.....	Página 52
<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>Página 53</b>
<b>IV. DISCUSSÃO.....</b>	<b>Página 59</b>
<b>V. PERSPETIVAS FUTURAS.....</b>	<b>Página 67</b>
<b>VI. CONCLUSÃO.....</b>	<b>Página 71</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>Página 73</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Representação esquemática de diferentes tipos de defeitos infra-ósseos. (A)defeito infra-ósseo de 1 parede; (B)defeito infra-ósseo de 2 paredes; (C)defeito infra-ósseo de 3 paredes; (D)Cratera (Papapanou & Tonetti, 2000). ....	Página 15
Figura 2 Esquema ilustrativo dos critérios necessários para a aplicação de cada técnica cirúrgica (MPPT, SPPF, Incisão Cristal). Adaptado de Cortellini, 2012. ...	Página 31
Figura 3 Esquema ilustrativo dos critérios que condicionam o desenho do retalho que é efetuado, tendo em contas as condicionantes locais do defeito infra-ósseo. Adaptado de Cortellini, 2012. ....	Página 32
Figura 4 Esquema ilustrativo dos critérios anatómicos e cirúrgicos inerentes à utilização das diferentes estratégias regenerativas. Adaptado de Cortellini, 2012. ....	Página 33
Figura 5 Esquema que ilustra a escolha do ponto de sutura mais indicado para as diferentes abordagens cirúrgicas. Adaptado de Cortellini, 2012. ....	Página 34
Figura 6 Representação esquemática dos fatores associados ao doente, que devem ser controlados antes de qualquer intervenção regenerativa. Adaptado de Cortellini & Tonetti, 2014. ....	Página 42
Figura 7 Esquema representativo do processo de seleção das publicações utilizadas como bibliografia primária. ....	Página 45
Figura 8 Representação esquemática dos pontos anatómicos, nas radiografias iniciais (A e B) e na radiografia efetuada 12 meses após o tratamento periodontal regenerador (B). Figura B representação o ângulo do defeito infra-ósseo, formado entre a parede dentária e a parede remanescente do defeito infra-ósseo; (JAC - Junção amelocementária; CO Crista óssea; BD - Base do defeito; TDR - Topo do defeito regenerado). ....	Página 52
Figura 9 Percentagem de indivíduos de cada género na amostra estudada. ....	Página 53
Figura 10 Numero de doentes presentes em cada grupo de estudo. (Grupo 1- dentes tratados com Emdogain®; Grupo 2- dentes tratados com Emdogain® e Osteon™). ....	Página 53

## **ÍNDICE DE TABELAS**



Tabela 1 Componentes celulares e moleculares envolvidos na regeneração periodontal. Adaptado de Bartold et al., 2000. ....	Página 17
Tabela 2 Tabela com as diferenças entre os resultados obtidos da terapia com Emdogain®-gel(Teste) e Emdogain®. Adaptado de Bratthall et al., 2001. ....	Página 20
Tabela 3 Tabela que representa os valores de recessão gengival inicial e após um ano obtidos em diferentes abordagens terapêuticas. Adaptado de Cortellini et al., 1995. ....	Página 28
Tabela 4 Alterações a nível de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção em diferentes terapias regenerativas de defeitos não contidos. Nos casos de RTG foi utilizada uma membrana não reabsorvível reforçada com titânio. Tabela adaptada de Siciliano et al., 2011. ....	Página 35
Tabela 5 Nível clínico de inserção ganho após cirurgia regenerativa com terapia de combinação de osso autógeno e PDME. Significância das diferenças dos dados iniciais(p). Adaptado de Trombelli et al., 2006. ....	Página 36
Tabela 6 Parâmetros clínicos iniciais e de 1 ano após a cirurgia de regeneração periodontal. Tabela adaptada de Yilmaz et al., 2010. ....	Página 37
Tabela 7 Médias dos valores obtidos através de medições radiográficas dos defeitos ósseos no estado inicial e 12 meses após a cirurgia regenerativas com as diferentes abordagens (n=28 para cada grupo). Adaptado de Aspriello et al., 2011. .	Página 38
Tabela 8 Médias dos valores obtidos 1 anos após cirurgia periodontal regenerativa, obtidas nas duas modalidades de tratamento. (PDME-Proteínas derivadas da matriz do esmalte; BPBM-Mineral de osso poroso bovino). Adaptado de Zucchelli et al., 2003. ....	Página 39
Tabela 9 Médias dos valores iniciais e obtidos após a cirurgia regenerativa nos dois grupos de estudo. Tabela adaptada de Pietruska et al., 2012. ....	Página 40
Tabela 10 Tabela representativa da morbidade dos pacientes durante e após a cirurgia em diferentes abordagens terapêuticas regenerativas. (SPPF-retalho simplificado de preservação da papila; MPPT-técnica modificada de preservação da papila; PDME-proteínas derivadas da matriz do esmalte; MIST-técnica cirúrgica minimamente invasiva; M-MIST-técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada). Adaptado de Cortellini, 2012. ....	Página 41
Tabela 11 Descrição do defeito infra-ósseo inicial, do defeito infra-ósseo 12 meses após a cirurgia regenerativa e descrição do ângulo do defeito infra-ósseo. ....	Página 54

Tabela 12 Média do preenchimento ósseo do defeito regenerado nos diferentes grupos de estudo (medidas em mm).....	Página 54
Tabela 13 Teste U de Mann-Whitney para o osso regenerado entre grupos de material de enxerto. ....	Página 55
Tabela 14 Correlação entre a idade do doente e o osso regenerado. ....	Página 55
Tabela 15 Correlação entre o ângulo do defeito infra-ósseo e o osso regenerado....	Página 55
Tabela 16 Correlação entre a mobilidade dentária e o osso regenerado. ....	Página 55
Tabela 17 Média da redução da profundidade de sondagem nos diferentes grupos de estudo.....	Página 56
Tabela 18 Valores médios e máximos de redução de profundidade de sondagem nos diferentes grupos de estudo e nas diferentes localizações sondadas. ....	Página 56
Tabela 19 Teste t-Student para as diferenças das profundidades de sondagem entre os diferentes grupos de estudo. ....	Página 57

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ALP - Promotor da fosfatase alcalina

BMP's - Proteínas ósseas morfogenéticas  
BMP-2 - Proteína óssea morfogenética 2  
BMP-7 - Proteína óssea morfogenética 7  
BPBM - Mineral de osso poroso bovino  
BD - Base do defeito  
CHX - Clorohexidina  
CO - Crista óssea  
CTGF - Fator de crescimento do tecido conjuntivo  
DBBM - Mineral de osso bovino desproteinizado  
DFDBA - Aloenxerto de osso desmineralizado liofilizado  
EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético  
FGF-2 - Fator de crescimento de fibroblastos  
IL-6 - Interleucina-6  
IL-8 - Interleucina-8  
JAC - Junção Amelocementária  
LP - Ligamento periodontal  
MIS - Cirurgia minimamente invasiva  
MIST - Técnica cirúrgica minimamente invasiva  
M-MIST - Técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada  
MMP-2 Metalopeptidase da matriz 2  
MPPT - Técnica modificada de preservação da papila  
NaCl - Cloreto de Sódio  
AO - Osso autógeno  
OPG - Osteoprotegerina  
OPN - Osteopontina  
Osx - Fator de transcrição específico para osteoblastos  
PDGF-AB - Fator de crescimento derivado de plaquetas  
PDME - Proteínas derivadas da matriz do esmalte  
PGA - Alginato de propilenoglicol  
PGE2 - Prostaglandina E2  
RTG - Regeneração tecidular guiada  
SPPF - Retalho simplificado de preservação da papila  
TDR - Topo do defeito regenerado  
TGF- $\beta$  - Fator de crescimento transformador  $\beta$

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$

VEGF - Fator de crescimento vascular endotelial

## I. INTRODUÇÃO

### 1. *Doença Periodontal*

A Periodontite consiste numa doença inflamatória caracterizada pela formação de bolsas, perda de suporte dentário, levando, no limite, à perda dentária(Matarasso, Blasi, Ramaglia, Salvi, & Sculean, 2015). Compreende qualquer distúrbio de origem hereditária ou adquirida que afete o periodonto. A doença periodontal engloba a gengivite e a periodontite, ambas causadas pela microflora patogénica presente na placa bacteriana, que se acumula na superfície dentária(B L Pihlstrom, Michalowicz, & Johnson, 2005).

Estudos epidemiológicos confirmam a associação entre a placa bacteriana, presente na superfície dentária, e a gengivite, tendo sido também comprovado que a gengivite precede sempre a periodontite, exceto nos casos de Periodontite Agressiva, em que esta relação já não é tão observável(Albandar & Rams, 2002).

A maioria dos tratamentos usados para controlar a periodontite são de natureza mecânica, eliminando fisicamente a placa bacteriana sub e supragengival. Os tratamentos periodontais favorecem a redução do espaço subgengival passível de ser colonizado por bactérias(Haffajee et al., 1997).

O alisamento radicular é um tratamento periodontal cuja sua efetividade clínica, a nível de redução da inflamação, da diminuição da profundidade de sondagem de bolsas, e a melhoria do nível de inserção clínica, foi comprovado(Sgolastra, Severino, Petrucci, Gatto, & Monaco, 2014).

Estudos de Morrison et al. 1983, Ramfjord et al. 1987, Kaldahl et al. 1993, citados por Haffajee, 1997, indicam que o alisamento e polimento radicular diminuem a profundidade de sondagem das bolsas periodontais(Haffajee et al., 1997), podendo ser restabelecido um epitélio juncional fisiológico, nas áreas em que se tenha eliminado o cálculo e a placa bacteriana(Rabbani, Ash, & Caffesse, 1981).

Porém, o tratamento periodontal através do alisamento radicular tem as suas limitações. Entre elas está a dificuldade no acesso a bolsas profundas, lesões de furca e concavidades, bem como, a incapacidade de eliminar agentes microbianos patogénicos, localizados nos túbulos dentinários(Sgolastra et al., 2014). O alisamento e polimento radicular é extremamente difícil(Pihlstrom, McHugh, Oliphant, & Ortiz-Campos, 1983). Após o alisamento e polimento das raízes, apesar da superfície se apresentar clinicamente lisa, continuam a estar presentes quantidades consideráveis de placa bacteriana(Rabbani et al., 1981).

A cirurgia periodontal com levantamento de um retalho pode ser necessário, uma vez que a completa eliminação de cálculo e placa bacteriana é mais difícil nas bolsas profundas(Rabbani et al., 1981), de forma a permitir uma visualização adequada das superfícies radiculares, bem como em segmentos posteriores, garantindo que a eliminação dos focos infecciosos é total(Pihlstrom et al., 1983).

Devido à sua natureza, localização e à anatomia dento-alveolar, as infeções periodontais, frequentemente resultam em padrões de destruição caracterizados pela presença de lesões infra-ósseas, tendo sido comprovada que a prevalência de defeitos infra-ósseos em adultos situa-se entre os 8 e os 32%(Tonetti, Prato, & Cortellini, 1996).

### ***1.1. Anatomia dos defeitos infra-ósseos***

A perda de suporte ósseo alveolar caracteriza a doença periodontal destrutiva. É considerado uma sequela anatómica da propagação no sentido apical da doença periodontal. A extensão e severidade da perda de osso alveolar é avaliada radiográfica e clinicamente, de forma a auxiliar o clínico no diagnóstico, tratamento, planeamento e avaliação do prognóstico da situação do doente periodontal(Papapanou & Tonetti, 2000).

Quanto à etiologia das lesões ósseas considera-se que a impactação alimentar associada a trauma oclusal e condicionantes anatómicas como elementos de retenção local de placa bacteriana podem estar na origem destes defeitos(Papapanou & Tonetti, 2000).

A classificação das bolsas periodontais foi criada tendo em conta a localização do fundo da bolsa, a sua relação com a crista alveolar(Goldman & Cohen, 1957) e segundo critérios morfológicos específicos(Papapanou & Tonetti, 2000). Desta forma podemos classificar as bolsas periodontais em (1)supra-ósseas ou supra-cristais, (2)infra-ósseas ou infra-cristais(Goldman & Cohen, 1957) e (3)inter-radiculares ou defeitos de furca(Papapanou & Tonetti, 2000).

A bolsa supra-óssea tem esta classificação uma vez que a sua base se encontra numa posição coronal à crista alveolar. Já as bolsas infra-ósseas definem-se pelo fundo da bolsa se encontrar numa zona apical à crista alveolar(Goldman & Cohen, 1957).

Os defeitos infra-ósseos foram classificados, de acordo com a sua morfologia, quanto à quantidade de paredes e localização das paredes ósseas residuais que rodeiam e compõem o defeito(Goldman & Cohen, 1957), largura do defeito ou ângulo radiográfico e em termos de extensão topográfica em torno do dente(Papapanou & Tonetti, 2000). Estes podem ser defeitos de 3 paredes ósseas, 2 paredes ósseas, 1 parede óssea(Goldman

& Cohen, 1957) e crateras(Papapanou & Tonetti, 2000).

Os defeitos infra-ósseos de 1 parede (Figura 1 A) são frequentemente encontrados nos espaços interdentários e são constituídos maioritariamente pela parede proximal, estando ausentes as paredes ósseas vestibular e lingual(Goldman & Cohen, 1957).

Os defeitos de 2 paredes ósseas (Figura 1 B) podem ser formados pela parede proximal e vestibular, ou proximal e lingual(Goldman & Cohen, 1957).

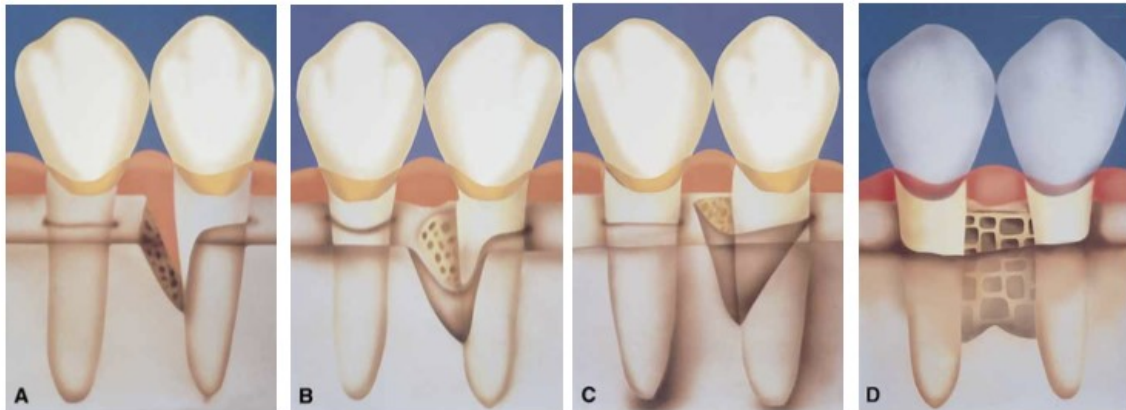


Figura 1 Representação esquemática de diferentes tipos de defeitos infra-ósseos. (A)defeito infra-ósseo de 1 parede; (B)defeito infra-ósseo de 2 paredes; (C)defeito infra-ósseo de 3 paredes; (D)Cratera (Papapanou & Tonetti, 2000).

Nos defeitos de 3 paredes ósseas (Figura 1 C) encontra-se uma parede proximal intacta, bem como uma vestibular e outra lingual do processo alveolar. Podem ser defeitos superficiais e largos (maior componente horizontal), ou profundos e estreitos (maior componente vertical). Este tipo de defeito ocorre frequentemente(Goldman & Cohen, 1957).

Um defeito com morfologia especial é a cratera (Figura 1 D). Define-se como tendo a forma de um copo ou uma taça no osso alveolar interdentário. Este defeito pode ser considerado o resultado da propagação apical da periodontite ao longo de duas raízes adjacentes, num espaço interdentário com uma distância mesio-distal relativamente curta(Papapanou & Tonetti, 2000).

Estas definições não são baseadas em avaliações radiográficas, mas sim no aspeto morfológico após a elevação de um retalho(Papapanou & Tonetti, 2000).

Muitas vezes, é difícil encaixar os defeitos ósseos numa classe, pois estes apresentam características de vários tipos de defeitos, sendo comum a combinação de vários defeitos num só. É frequente um defeito na sua zona apical apresentar mais paredes do que na zona mais coronal(Goldman & Cohen, 1957).

## **2. *Cirurgia Periodontal Regenerativa***

Reparação e Regeneração periodontal são conceitos diferentes. Reparação compreende a cicatrização de uma ferida por um tecido que não restaura na totalidade a arquitetura ou função do tecido. O termo Regeneração remete para a reprodução ou reconstituição de um tecido perdido ou lesionado (Glossary of Periodontal Terms, 2001).

A cirurgia periodontal regenerativa engloba técnicas que estão vocacionadas para a restauração dos tecidos de suporte dos dentes. Uma vez que o osso é um tecido necessário para haver sucesso na regeneração, várias terapias como o uso de agentes biológicos ou membranas têm sido direcionadas para este fim, com o pressuposto de que outros tecidos periodontais necessários serão reproduzidos subsequentemente (Cochran & Wozney, 1999). As técnicas de regeneração periodontal são utilizadas de maneira a melhorar a curto e longo prazo os resultados clínicos de dentes periodontalmente comprometidos, que se apresentem com bolsas periodontais profundas e suporte periodontal diminuído (Cortellini, 2012).

### **2.1. *Abordagens Regenerativas***

Os eventos envolvidos na regeneração periodontal são complexos e necessitam da participação de muitos componentes celulares do periodonto. Estes eventos incluem uma componente celular inflamatória, recrutamento de células do tecido conjuntivo, a sua proliferação e diferenciação, bem como a síntese de constituintes da matriz extracelular (Bartold, McCulloch, Narayanan, & Pitaru, 2000).

A regeneração periodontal envolve vários tipos celulares (Tabela 1): fibroblastos para o tecido conjuntivo, cimentoblastos para a cimentogénese, osteoblastos para o osso e células endoteliais para a angiogénese. Durante o processo regenerativo, estas células têm de interagir com vários mediadores, indicando que a regeneração é regida por uma combinação de interações do tipo molécula-célula, célula-matriz e célula-célula (Bartold et al., 2000).

As técnicas de regeneração tecidual guiada (RTG), proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), ou combinação das técnicas anteriormente descritas têm sido usados para regenerar os tecidos de suporte dos dentes, tais como o osso alveolar, ligamento periodontal e cimento radicular (Matarasso et al., 2015).



Tabela 1 Componentes celulares e moleculares envolvidos na regeneração periodontal. Adaptado de Bartold et al., 2000.

Células	Epiteliais	Epitélio juncional
	Fibroblastos	Fibroblastos gengivais, fibroblastos do ligamento periodontal
	Células osteoblasticas	Osteoblastos, células do osso alveolar, cimentoblastos
Moléculas	Fatores de crescimento	Fatores de crescimento de fibroblasto -1 e -2, fator de crescimento semelhante à insulina -I e -II, proteínas ósseas morfogenéticas, fator de crescimento epidermal, fator de crescimento derivado das plaquetas, fator de crescimento clorela
	Moléculas de adesão	Fibronectina, laminina, osteopontina, sialoproteína óssea, colagénio, proteína de adesão do cimento
	Proteínas estruturais	Colagénio tipo I, III, XII, XIV, proteoglicanos, ácido hialurónico, osteocalcina, proteínas não-colagénicas, tenascina, osteonectina, proteínas da matriz do esmalte/dentina

### 2.1.1. Regeneração Tecidual Guiada

A regeneração tecidual guiada (RTG) com recurso a enxertos ósseos, membranas ou combinação de ambos têm sido abordagens muito usadas. Os resultados obtidos com estes tratamentos mostraram-se superiores ao simples desbridamento com cirurgia de retalho(Mueller, Welch, Bratu, & Wang, 2013).

Na RTG é utilizada uma membrana biocompatível, seja ela reabsorvível ou não reabsorvível, posicionada cirurgicamente em torno da raiz do dente, de maneira a selar o defeito ósseo e proteger o coágulo sanguíneo. A RTG tem como fundamento o princípio da exclusão de células epiteliais, impedindo que estas colonizem a zona que se pretende regenerar, mantendo o espaço para o coágulo regenerar os tecidos periodontais(Esposito, Mg, Papanikolaou, Coulthard, & Hv, 2009).

Células com características semelhantes podem-se agregar e ocupar um determinado local, excluindo outras células diferentes. Foi demonstrado que a osteogénese, que ocorre na regeneração de defeitos ósseos, pode ser inibida pela invasão do local por células não osteogénicas, que excluem as células osteogénicas que estão a migrar para o local(Melcher, 1976).

Se um defeito ósseo do processo alveolar for ocupado por células derivadas do tecido conjuntivo da gengiva, não vai haver a possibilidade das células do ligamento periodontal e ósseas migrarem para ocupar o defeito ósseo. Isto acontece devido à ausência de potencial osteogénico das células da gengiva(Melcher, 1976).

A colocação de enxertos de osso autógeno ou materiais de enxerto ósseo de origem animal ou sintéticos, ajudam as células com potencial osteogénico a colonizar a área

enxertada, visto que afastam a lâmina própria da gengiva, aumentando desta forma a distância que as células do tecido conjuntivo da gengiva têm de migrar para colonizar a zona. Se as células osteogênicas estão presentes, ou conseguem alcançar o local enxertado antes das células do tecido conjuntivo gengival, então é possível que o nível ósseo aumente coronalmente durante a cicatrização(Melcher, 1976)

As membranas funcionam como um método mecânico que seleciona as células que podem colonizar o coágulo sanguíneo(Melcher, 1976), mantendo o espaço necessário para a regeneração, dando estabilidade ao coágulo(Cortellini & Tonetti, 2014).

A cicatrização das feridas cirúrgicas e os ganhos de inserção clínica obtidos por técnicas de RTG podem ser influenciados por vários fatores como a técnica cirúrgica utilizada, a anatomia dentária e as características do defeito. A carga bacteriana é outro fator que afeta todas as técnicas regenerativas. Estudos como os de Demolon et al., 1993, Machtei et al., 1993 e Nowzari & Slats, 1994, citados por Spahr, 2002, mostraram que as membranas podem ser fortemente colonizadas por bactérias e que há uma relação negativa entre os ganhos de inserção clínica e a colonização bacteriana da membrana(Spahr et al., 2002).

### ***2.1.2. Materiais de Enxerto ósseo***

Relativamente aos materiais de enxerto ósseo, estes podem ser de origem autógena, alógena ou xenógena(Cortellini & Tonetti, 2014). Podem possuir propriedades osteoindutoras e osteocondutoras(Esposito et al., 2009), tendo também capacidade para manter o espaço para a regeneração e estabilizar o coágulo(Cortellini & Tonetti, 2014). Os materiais de enxerto ósseo constituem um grupo heterogêneo de materiais, podendo ser de origem humana, Autoenxerto ou Aloenxerto(Miron, Guillemette, Zhang, Chandad, & Sculean, 2014), origem animal, Xenoenxerto ou de origem sintética, Enxertos Aloplásticos(Miron et al., 2014).

### ***3. Proteínas derivadas da Matriz do Esmalte***

Devido a limitações de alguns materiais regeneradores, pesquisas levaram ao desenvolvimento de materiais regeneradores de segunda geração, levando então ao aparecimento das proteínas derivadas da matriz do esmalte(PDME), sendo este o primeiro agente bioativo(Mueller et al., 2013).

A utilização de compostos biológicos baseia-se na sua capacidade de induzir ou acelerar o processo de formação de matriz extracelular e diferenciação celular. Estes

produtos reforçam o processo de cicatrização, porém não têm capacidade mecânica de manter espaço e estabilizar o coágulo sanguíneo(Cortellini & Tonetti, 2014).

### ***3.1.Características das PDME***

A regeneração periodontal mediada por PDME baseia-se num conceito diferente da RTG. Pressupõe-se que as PDME, quando usadas em defeitos ósseos mimetizem o mecanismo da cimentogénese. As PDME têm como principal constituinte as amelogeninas, cerca de 90%. Acredita-se que as amelogeninas estimulem a formação de adesão periodontal durante a formação dos dentes(Esposito et al., 2009).

A única formulação comercializada é denominada de Emdogain®, produzida pela Biora (Malmo, Suécia). A companhia Biora foi incorporada pela Straumann Biologic Division desde 1 de Abril de 2004. Inicialmente, o Emdogain® era comercializado numa formulação diferente da atual, apresentando-se as PDME isoladas e uma solução de alginato de propilenoglicol (PGA), que teriam de ser misturados antes de aplicar. Hoje em dia, a formulação já está pronta a utilizar, sendo comercializado sobre a forma de gel de Emdogain®(Esposito et al., 2009).

Segundo um estudo de Bratthal, 2001, citado por Esposito et al., 2009, foi demonstrado não haver diferenças entre a formulação original e o gel pronto a aplicar(Esposito et al., 2009). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos nos grupos de teste(Emdogain®-gel) e de controlo(Emdogain®) (Tabela 1)(Bratthall, Lindberg, Holmstrup, & Bay, 2001).

Tabela 2 Tabela com as diferenças entre os resultados obtidos da terapia com Emdogain®-gel (Teste) e Emdogain® (Controlo). Adaptado de Bratthall et al., 2001.

		Início (n=88)	8 meses (n=88)	16 meses (n=85)
Profundidade de Sondagem (mm)	Teste	7,8±1,69	4,4±1,31	4,1±1,35
	Controlo	7,8±1,50	4,5±1,29	4,2±1,44
Nível clínico de adesão (mm)	Teste		2,3±1,16	2,7±1,34
	Controlo		2,5±1,44	2,9±1,57
Alteração da recessão (mm)	Teste		1,1±0,97	0,9±1,06
	Controlo		0,9±0,88	1,0±1,01
			8 meses (n=83)	16 meses (n=77)
Ganho ósseo radiográfico (mm)	Teste		0,8±0,97	1,0±1,13
	Controlo		0,7±0,88	1,0±1,01

### 3.2. Origem e composição das PDME

As PDME são obtidas a partir de germens dentários de porcos com 6 meses de idade. Como as PDME são de origem porcina, pensava-se que poderiam despoletar reações imunológicas em humanos. Porém, estas proteínas são muito semelhantes entre as espécies de mamíferos, havendo pouca probabilidade de haver antígenos, sendo seguro o seu uso em humanos(Cattaneo et al., 2003).

As proteínas da família das amelogeninas caracterizam-se pela capacidade de se agregarem, tornando-se praticamente insolúveis quando estão estabelecidas condições fisiológicas (pH de 7,4 e temperatura do sangue, aproximadamente 35°C±1°C). A solubilidade destas proteínas aumenta a pH ácido ou alcalino e a baixa temperatura(Gestrelus et al., 1997).

Estas proteínas altamente conservadas, mantiveram-se durante os processos evolutivos, o que indica a sua importância funcional e explica a biocompatibilidade entre os derivados de origem porcina e o organismo humano. Explica-se desta forma a ausência de reações alérgicas em humanos(Cattaneo et al., 2003).

As amelogeninas são proteínas da matriz extracelular, enquadrando-se no grupo de agentes regeneradores que recorrem a proteínas derivadas da matriz extracelular. Este grupo é caracterizado por ser um agente controlador da migração de grupos celulares, estabelecerem os locais onde as diferentes células aderem, bem como o seu funcionamento. As amelogeninas regulam a iniciação e crescimento dos cristais de hidroxiapatite durante a mineralização do esmalte(Cochran & Wozney, 1999).

As PDME, apresentam na sua constituição mais de 90% de amelogeninas. Segundo estudos *in vitro*, promovem a proliferação das células do ligamento periodontal, produção de colagénio e mineralização(Ashkenazi & Shaked, 2006). O efeito expectável pela aplicação de PDME é a formação de cimento(Cochran & Wozney, 1999) acelular(Hammarstrom, 1997). Os restantes 10% englobam proteínas da matriz do esmalte diferentes das amelogeninas, tais como enamelinas, tufletina, amelina e ameloblastina(Carinci et al., 2006).

Uma das propriedades da solução veículo, o PGA do Emdogain® é produzir um efeito antimicrobiano sobre os patogenos periodontais(Bosshardt, 2008; Esposito et al., 2009). O PGA graças à sua acidez natural, permite a dissolução das amelogeninas, que são difíceis de dissolver, facilitando a aplicação uniforme das PDME(Spahr et al., 2002).

O PGA possui um pH baixo(Arweiler, Donos, & Sculean, 2002), cerca de 5.0(Sculean, Ausschill, Donos, Brex, & Arweiler, 2001), podendo influenciar o normal metabolismo bacteriano(Arweiler et al., 2002).

Sculean et al., 2001, avaliou os efeitos das PDME sobre a vitalidade da placa bacteriana dentária. Foram colhidas amostras a 24 pacientes com periodontite crónica. As amostras foram posteriormente expostas a várias soluções por um período de 2 minutos, seguindo-se a medição da vitalidade bacteriana. Para o controlo negativo do estudo foi utilizada uma solução de cloreto de sódio (NaCl) e uma solução de Clorohexidina a 0,2% (CHX) como controlo positivo. Estas substâncias (NaCl e a clorohexidina) resultaram numa diminuição da sobrevivência bacteriana para 76,8% e 32,3% respetivamente. Na amostra exposta às PDME isoladas, apenas 54% das bactérias permaneceram vitais. A amostra exposta ao PGA, a substância veículo das PDME, apenas revelou 19,6% de vitalidade bacteriana. Quando se utilizaram as PDME+PGA, apenas 21,4% das bactérias sobreviveram. Demonstrou-se então que o PGA possui um efeito antimicrobiano maior do que a CHX a 0,2%(Sculean et al., 2001).

Spahr et al., 2002, avaliou o efeito das PDME na vitalidade e proliferação dos organismos microbianos orais associados à progressão da periodontite (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*). Utilizou como grupo de controlo outros microrganismos não associados à doença periodontal tais como o *S. mutans*. Os resultados deste estudo indicam que as PDME preparadas com PGA possuíam efeitos inibitórios no crescimento dos três patogenos gram-negativos envolvidos na periodontite. Neste estudo provou-se também o efeito inibitório das bactérias gram-negativas pelo uso do PGA isoladamente(Spahr et al., 2002).

Arweiler, 2002, mostrou que as PDME, o PGA e a CHX possuem efeitos antimicrobianos significativos quando comparados com uma solução de NaCl ou gel de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 24%. Neste estudo, a redução da vitalidade das bactérias, após exposição às PDME, ao PGA e à CHX foi respectivamente de 19%, 22% e 35%. A CHX apresentou a maior percentagem de redução da vitalidade bacteriana, podendo isto dever-se à excelente substantividade da mesma. Os resultados do estudo de Arweiler, 2002, parecem indicar que o efeito antibacteriano das PDME é influenciado pela solução veículo, o PGA(Arweiler et al., 2002).

### **3.3. Funcionamento das PDME**

O tratamento de defeitos periodontais com PDME resulta na formação de novo cimento, novo ligamento periodontal e novo osso alveolar(Sculean et al., 2001). A evidência científica disponível sugere que as PDME aumentam a adesão celular a nível das células epiteliais, fibroblastos gengivais e fibroblastos do ligamento periodontal. Há também promoção da adesão de células e fibroblastos gengivais, porém parece ser dependente do estadio de diferenciação e maturação celular(Kawase, Okuda, Yoshie, & Burns, 2000).

Esposito et al., 2004, citado por Carinci, 2006, defende que as PDME, quando utilizadas em tratamentos regeneradores, proporcionam melhorias significativas a nível de adesão periodontal e redução da profundidade de bolsas quando comparado com desbridamento e cirurgia de retalho(Carinci et al., 2006).

#### **3.3.1. Cimentogénese**

Existem vários tipos de cimento. Esta diferenciação é feita com base na presença ou ausência de células e na origem e direção das fibras de colagénio(Hammarstrom, 1997).

O (1)cimento fibroso acelular extrínseco é composto por feixes altamente compactados de fibras de “Sharpey” numa substância acelular amorfa. Este cobre a zona cervical da raiz numa extensão de 1/3 a 2/3 do comprimento da raiz. O (2)cimento não fibroso acelular, não possui nem fibras nem células, podendo ser encontrado na zona cervical do dente. O (3)cimento celular estratificado misto é composto por fibras extrínsecas e por células distribuídas de forma irregular. Este tipo de cimento é encontrado maioritariamente no 1/3 apical da raiz. O (4)cimento celular fibroso intrínseco possui células e fibras de colagénio, porém estas últimas não chegam ao ligamento

periodontal. É encontrado principalmente como um tecido de reparação após reabsorção radicular(Hammarstrom, 1997).

A cimentogénese e a formação da raiz são dois processos intimamente relacionados. A bainha epitelial de “*Hertwig*” induz as células mesenquimais da papila dentária a formar a camada de pré-dentina. Acreditava-se que as células do folículo dentário ao ficarem expostas à dentina quase formada iriam induzir a cimentogénese. Porém, trabalhos experimentais em que se conjugou a dentina com células foliculares provaram que, apenas a superfície dentinária exposta não serve de estímulo para haver diferenciação de cementoblastos(Hammarstrom, 1997).

Slavkin & Boyde, 1975, e Slavkin, 1976, citados por Hammarstrom, 1997, propuseram que proteínas relacionadas com o esmalte da bainha epitelial da raiz estavam envolvidas na formação de cimento acelular(Hammarstrom, 1997).

Dados indicam que existe atividade de síntese nas células da bainha epitelial de “*Hertwig*”, segregando moléculas para o ambiente extracelular(Bosshardt, 2008) e que uma matriz semelhante ao esmalte era formada na superfície da raiz antes da formação de cimento, ou funcionando como um passo que vai iniciar a sua formação(Hammarstrom, 1997). As PDME foram encontradas ao longo da raiz em formação, acreditando-se que estas desempenham um papel fundamental na diferenciação de células progenitoras em cementoblastos, que produzem especificamente cimento acelular(Bosshardt, 2008).

Hammarstrom, 1997, provou que as proteínas da matriz do esmalte estão envolvidas na formação do cimento.

Nos dentes humanos em desenvolvimento foram encontradas amelogeninas nas áreas em que a cimentogénese é iniciada, e que um tecido “*cementum-like*” era formado quando as células do folículo dentário ficavam expostas à matriz do esmalte. Foi também detetada uma fina camada de esmalte altamente mineralizada, que por vezes estava presente e que se estendia do esmalte coronário entre a dentina e o cimento. A presença da camada de esmalte e amelogenina nos locais de formação de cimento, suportaram a ideia de que a deposição da matriz do esmalte na superfície dentinária precede a formação de cimento acelular nos dentes humanos(Hammarstrom, 1997).

Durante o desenvolvimento dentário foram encontradas amelogeninas nas áreas onde a cimentogénese é iniciada, e é formado um tecido semelhante ao cimento quando as células do folículo dentário são expostas às PDME(Arweiler et al., 2002).

Experiências *in vitro* e *in vivo* evidenciaram que as PDME modulam o

comportamento de múltiplos tipos de células dentárias e não dentárias. Verificou-se a regulação positiva do monofosfato de adenosina cíclico(AMPC), aumentando os seus níveis, induzindo consequentemente a síntese e secreção do fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e interleucina-6 (IL-6), em cultura de células do ligamento periodontal e fibroblastos gengivais. Foi também verificado que as PDME inibem o crescimento epitelial e estimulam a proliferação de pré-odontoblastos e diferenciação de pré-odontoblastos imaturos(Arweiler et al., 2002).

### **3.3.2. Ligamentogénese**

A maioria dos estudos, quando se referem aos efeitos das PDME, muitas vezes remetem para a proliferação celular. As PDME parecem favorecer a proliferação celular de grupos celulares específicos. Nestes grupos celulares encontram-se as células do ligamento periodontal (LP), especificamente os fibroblastos. Já os fibroblastos gengivais e as células epiteliais parecem não responder tão bem(Bosshardt, 2008).

Este auxílio no crescimento e diferenciação das células do LP, bem como dos cimentoblastos, ao mesmo tempo que restringem a capacidade de células epiteliais de proliferar e crescer para a zona da raiz do dente, parece ser uma das formas de como as PDME promovem a regeneração periodontal(Kawase et al., 2000).

No estudo de Kawase et al., 2000, foi provado que as PDME estimularam a proliferação de células humanas do ligamento periodontal. Este estudo sugere também que as PDME produzem efeitos diferentes de acordo com o tipo celular, ou seja, o crescimento de células humanas semelhantes ao epitélio da cavidade oral é significativamente inibido(Kawase et al., 2000).

Segundo os trabalhos de Lyngstadaas, 2001, a taxa de crescimento de células do LP demonstra que as PDME mimetizam uma matriz extracelular que facilita a rápida adesão desde grupo celular. Os resultados desta experiência levam a acreditar que as PDME facultam um ambiente propício para que as células do LP aumentem o seu metabolismo(Lyngstadaas, Lundberg, Ekdahl, Andersson, & Gestrelus, 2001).

Nas culturas de células do ligamento periodontal o aumento da taxa de crescimento reflete-se no aumento da síntese de DNA. Após alguns dias em cultura, estas células começam a produzir e secretar fator de crescimento transformante  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ )(Streuli, Schmidhauser, Kobrin, Bissell, & Derynck, 1993).

O TGF- $\beta 1$  é um fator de crescimento pluripotente, maioritariamente associado às



plaquetas sanguíneas e ao tecido ósseo. A atividade *major* deste fator de crescimento é a estimulação da síntese e deposição de proteínas da matriz extracelular e aumento da expressão de integrinas, que funcionam como recetores que medeiam a interação entre células e proteínas da matriz extracelular (Lyngstadaas et al., 2001).

O gene que expressa o TGF- $\beta$ 1, uma isoforma do TGF- $\beta$ , é negativamente regulado pela matriz extracelular, ou seja, na ausência de matriz extracelular há transcrição do gene do TGF- $\beta$ 1 por estimulação do promotor do TGF- $\beta$ 1 (Streuli et al., 1993).

A deposição de proteínas da matriz extracelular estimulada pelo TGF- $\beta$  é frequentemente, acompanhada pelo aumento de inibidores de proteases e pela coibição da síntese de proteases degradantes da matriz extracelular. O TGF- $\beta$  é considerado o fator de crescimento mais potente, no que compete à regulação da síntese e deposição de matriz extracelular e a sua interação com células (Lyngstadaas et al., 2001). O TGF- $\beta$  funciona como regulador fisiológico da cicatrização (Streuli et al., 1993). Estudos como o de Gao et al., 1999 e Hobbs et al., 1999, citados por Lyngstadaas, 2001, sugerem que este fator de crescimento favorece a regeneração periodontal.

Outro fator de crescimento que aparece na cultura de células é a interleucina 6 (IL-6). A IL-6 é uma citocina pleiotrópica que contribui para a remodelação óssea (Lyngstadaas et al., 2001).

Estes dois fatores parecem induzir a mitogénese nas células do ligamento periodontal, enquanto regulam negativamente as suas características semelhantes aos osteoblastos, reduzindo por conseguinte, a reabsorção óssea (Lyngstadaas et al., 2001).

As células epiteliais são as que menos respondem às PDME a nível de proliferação celular. Porém, aparentemente, as PDME não surtem um efeito citotóxico, mas sim citostático sobre este grupo celular (Bosshardt, 2008).

### 3.3.3. *Osteogénese*

Boyan et al., 2000, citado por Bosshardt, 2008, mostrou que as PDME são osteopromotoras. Schwartz et al., 2000, citado por Bosshardt, 2008, no seu estudo demonstrou que as PDME afetam os estádios iniciais da maturação celular, através da estimulação da proliferação celular. Porém, à medida que as células progridem na sua maturação, as PDME apenas favorecem a sua diferenciação, fazendo aumentar o número de osteoblastos e estimulando a secreção de TGF- $\beta$ 1.

As PDME aumentam a expressão dos fatores de transcrição (Osx, Cbfa1/Runx2,

Sox9, Zfp60, AJ18) relacionados com a diferenciação dos condroblastos, osteoblastos e cimentoblastos(Bosshardt, 2008). Estimulam também a síntese proteica e a síntese de moléculas extracelulares específicas (glicoproteínas e proteoglicanos). De uma maneira geral, fazem a regulação negativa de genes envolvidos nas fases iniciais da resposta inflamatória da cicatrização e regulam positivamente os genes que codificam moléculas promotoras do crescimento e reparação. Entre as moléculas reguladas positivamente pelo efeito das PDME encontram-se o TGF- $\beta$ , BMP-2, BMP-7, PDGF-AB, VEGF, CTGF, FGF-2, IGF-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, PGE2, OPN, colagénio tipo II e X, MMP-2 e ALP(Bosshardt, 2008).

As PDME têm um papel importante na remodelação óssea. Acredita-se que modulam o sistema RANK-RANKL-OPG. Esta modulação acontece pela regulação positiva da osteoprotegerina (OPG) e regulação negativa do RANKL. A modulação do sistema RANK-RANKL-OPG, que está na base da modelação óssea, funciona de forma a que haja aposição óssea, uma vez que o RANKL está envolvido na diferenciação dos osteoclastos e na sua atividade(Bosshardt, 2008).

#### ***4. Técnica Cirúrgica***

##### ***4.1.Técnica cirúrgica para uso de Emdogain®***

A técnica cirúrgica para a regeneração de defeitos infra-ósseos de 2 e 3 paredes começa por uma incisão intra-sulcular na face vestibular do dente associado ao defeito infra-ósseo. É feita uma incisão na extremidade da papila relacionada com o defeito infra-ósseo. Se o defeito infra-ósseo for acessível apenas por vestibular, só é elevado um retalho de espessura total vestibular. Incisões de descarga podem ser realizadas caso seja necessário.(Straumann®, 2015).

O tecido de granulação é removido. São efetuados alisamento e polimento da superfície dentária, de forma a remover toda a placa bacteriana e cálculo remanescente. A superfície radicular é condicionada com PrefGel® Straumann durante 2 minutos e depois lavada com solução salina estéril. Tenta-se com que o coágulo sanguíneo não se acumule na superfície radicular condicionada(Straumann®, 2015).

Imediatamente é aplicado o Emdogain® Straumann sobre a superfície radicular, começando pela zona apical da raiz. Os retalhos são finalmente reposicionados e suturados. O encerramento primário é conseguido através da realização de um ponto colchoeiro modificado interno. A sutura é removida após 14 dias(Straumann®, 2015).

#### ***4.2. Técnicas cirúrgicas minimamente invasivas***

Nos últimos anos tem havido um aumento do interesse na busca de técnicas cirúrgicas mais cómodas para o doente, levando ao desenvolvimento de técnicas cada vez menos invasivas(Cortellini, 2012).

A aplicação dos diversos materiais e técnicas regeneradoras requerem a estabilização e proteção dos tecidos moles, evitando a contaminação bacteriana. As técnicas minimamente invasivas permitem a completa preservação do tecido marginal, de forma a que o encerramento primário seja conseguido, recobrando todo o material regenerador(Cortellini & Tonetti, 2014).

##### ***4.2.1. Cirurgia minimamente invasiva***

Harrel e Rees, 1995, citados por Cortellini, 2012, descreveram uma técnica de cirurgia minimamente invasiva (MIS). Esta tem como propósito conseguir feridas cirúrgicas e retalhos de pequenas dimensões(Cortellini, 2012).

A MIS engloba o uso de instrumentos de ampliação para a realização dos procedimentos cirúrgicos, tais como microscópios operatórios ou lupas cirúrgicas e materiais e instrumentos de microcirurgia(Cortellini, 2012).

Esta técnica consiste numa incisão intra-sulcular em redor do dente passando pelo defeito, seguindo-se uma incisão entre os dois dentes. Normalmente esta última incisão é efetuada do lado lingual, tendo como objetivo unir as incisões intra-sulculares realizadas no início desta técnica. A papila é separada do osso subjacente e dois pequenos retalhos, lingual e vestibular, são elevados. O tecido conjuntivo presente no defeito ósseo é dissecado com recurso a micro-lâminas e eliminado com curetas e instrumentos ultrassónicos, sendo a raiz do dente também alisada e, posteriormente, polida com brocas de finalização. Por último, o retalho é suturado de forma a obter um encerramento primário com recurso a um ponto colchoeiro vertical(Cortellini, 2012).

##### ***4.2.2. Retalhos de preservação da papila***

Os retalhos de preservação de papila, nomeadamente a técnica modificada de preservação da papila (MPPT) e o retalho simplificado de preservação da papila (SPPF), foram desenvolvidos de forma a proporcionar retalhos largos e móveis, permitindo uma visibilidade ótima do campo operatório e capacidade de colocação de biomateriais. Estes retalhos permitem o reposicionamento coronal dos tecidos moles, recobrando membranas e biomateriais que tenham sido utilizados para preencher o defeito(Cortellini, 2012).

### ***Técnica modificada de preservação da papila (MPPT)***

A técnica modificada de preservação da papila (MPPT) foi concebida de forma a que seja possível o encerramento primário do retalho e manter o espaço para a regeneração da área interdentária. Esta técnica consiste numa incisão horizontal traçada do lado vestibular da papila e elevação de dois retalhos (vestibular e lingual) de espessura total. É também realizada uma incisão no periósteo por lingual, para haver um aumento da mobilidade do retalho lingual. Incisões de descarga verticais podem ser realizadas caso seja necessário. A dupla camada de suturas é obrigatória. O ponto de colchoeiro cruzado profundo faz com que haja um avanço coronal do retalho vestibular, enquanto que a segunda sutura serve para selar a papila interdentária quando não há tensão (Cortellini & Tonetti, 2014).

Cortellini, 1995, comparou três grupos de doentes. Num dos grupos os doentes foram tratados com recurso à MPPT com utilização de uma membrana reforçada com titânio, outro grupo foi tratado com a aplicação de uma membrana de politetrafluoroetileno expandido (PTFE-e) colocada coronalmente à crista alveolar, o último grupo de pacientes foi tratado apenas com uma técnica cirúrgica de retalho. Um dos parâmetros deste estudo foi a recessão gengival, que se provou ser menor no grupo tratado com a MPPT após um ano (Tabela 2) (Cortellini, Prato, & Tonetti, 1995).

Tabela 3 Tabela que apresenta os valores de recessão gengival inicial e após um ano obtidos em diferentes abordagens terapêuticas. Adaptado de Cortellini et al., 1995.

	MPPT com membrana reforçada com titânio	RTG com membrana de PTFE-e	Cirurgia de Retalho
Recessão Inicial	1,7±1,6 mm	2,1±1,4 mm	1,3±1,4 mm
Recessão após 1 ano	2,6±1,6 mm	3,5±1,4 mm	3,4±1,8 mm

### ***Retalho simplificado de preservação da papila (SPPF)***

O retalho simplificado de preservação da papila (SPPF) consiste numa incisão oblíqua realizada na face vestibular da papila sem atingir a sua extremidade. Incisões intra-sulculares são realizadas, do espaço interdentário para as faces vestibular e lingual dos dentes vizinhos do defeito. Pequenos retalhos, lingual e vestibular, são elevados de forma e expor a crista óssea remanescente. O tecido de granulação presente no defeito é dissecado e eliminado com mini curetas e instrumentos rotatórios. Os retalhos são

suturados com um ponto colchoeiro interno modificado. A SPPF é indicada para situações em que o espaço interproximal é mais estreito. Esta técnica tem tido sucesso tanto quando é utilizada uma membrana como outros materiais regeneradores, incluindo materiais biológicos tais como as PDME(Cortellini & Tonetti, 2014).

As abordagens minimamente invasivas são particularmente adequadas para a terapia com materiais biologicamente ativos como as PDME. Estas técnicas minimamente invasivas tais como a SPPF e MPPT devem ser realizadas com recurso a microscópio operatório ou lupas cirúrgicas. Instrumentos microcirúrgicos são utilizados sempre que seja necessário(Cortellini & Tonetti, 2014).

#### ***4.2.3. Técnica cirúrgica minimamente invasiva***

A técnica cirúrgica minimamente invasiva (MIST), proposta por Cortellini e Tonetti, 2007, citado por Cortellini, 2012, em tudo se assemelha à MIS alterando-se a forma como a papila interdentária é manipulada(Cortellini, 2012). A papila interdentária associada ao defeito é abordada com a técnica SPPF ou MPPT. A técnica SPPF é utilizada quando a largura do espaço interdentário é menor ou igual a 2mm. Quando a largura do espaço interdentário é superior a 2mm a incisão MPPT é utilizada(Cortellini & Tonetti, 2007).

Na MIST as incisões interdentárias, sejam elas pela técnica SPPF ou MPPT, são estendidas pelas faces vestibular e lingual dos dois dentes adjacentes ao defeito. As incisões são apenas intra-sulculares, preservando a altura e largura da gengiva, e a sua extensão é mantida o mínimo necessário para permitir a elevação corono-apical dos retalhos de espessura total, de maneira a expor apenas 1 a 2 mm da crista óssea residual. O defeito é desbridado com recurso a mini curetas e instrumentos elétricos, sendo também feito um polimento das raízes(Cortellini & Tonetti, 2007).

Os retalhos são reposicionados no seu nível original e suturados com um ponto de colchoeiro interno modificado(Cortellini & Tonetti, 2007)

#### ***4.2.4. Técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada***

Na técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada (M-MIST) a papila que se encontra associada ao defeito ósseo é abordada cirurgicamente pelas técnicas SPPF ou MPPT, caso o espaço interdentário seja inferior ou igual a 2mm, ou superior a 2mm,

respetivamente(Cortellini & Tonetti, 2009).

A incisão interdentária é estendida pela face vestibular dos dois dentes adjacentes ao defeito. As incisões são intra-sulculares, mantendo desta forma a altura e a largura da gengiva, e a sua extensão mesio-distal é restringida ao mínimo necessário para permitir a elevação do retalho triangular vestibular, expondo o bordo coronal da crista alveolar. Idealmente estas incisões estendem-se até à zona média vestibular dos dentes envolvidos(Cortellini & Tonetti, 2009).

Os tecidos papilares interdentários são parcialmente incisionados no sentido vestibulo-lingual e corono-apical, com uma micro-lâmina, separando os tecidos supra-cristais, coronalmente, do tecido de granulação, apicalmente, que preenche o defeito(Cortellini & Tonetti, 2009).

Especial cuidado deve ser tido quando o espaço que se encontra parcialmente oculto pelos tecidos moles lingual e papilar não elevados é abordado(Cortellini & Tonetti, 2009).

As fibras da papila inseridas na crista óssea e na raiz que se encontra associada à crista óssea remanescente não devem ser danificadas, de maneira a preservar a estabilidade da papila(Cortellini & Tonetti, 2009). O retalho é extremamente estável, uma vez que a maioria dos tecidos moles em redor do defeito ósseo não são incisionados ou descolados, permitindo uma excelente estabilidade do coágulo(Cortellini & Tonetti, 2014).

A raiz é polida e o retalho suturado com um ponto colchoeiro interno modificado(Cortellini & Tonetti, 2009).

A M-MIST foi desenhada especificamente para melhorar a estabilidade do retalho, bem como conferir capacidade própria de manter o espaço para a regeneração. A ferida operatória de reduzidas dimensões que é produzida, bem como o reduzido retalho que é descolado, permitem a preservação dos vasos sanguíneos, mantendo um aporte sanguíneo ótimo aos tecidos interdentários(Cortellini & Tonetti, 2014).

O trauma mínimo do retalho, a integridade dos vasos sanguíneos e do aporte de sangue, bem como a passividade das suturas garantem o encerramento por primeira intenção do retalho, prevenindo desta forma a contaminação bacteriana(Cortellini & Tonetti, 2014).

#### 4.3. Escolha da técnica cirúrgica

A papila interdentária associada ao defeito infra-ósseo, pode ser abordada cirurgicamente através de várias técnicas como a SPPF, a MPPT e a incisão cristal (Figura 2). A SPPF é escolhida quando o espaço interdentário tem até 2mm de largura, a MPPT é usada em locais cujo espaço interdentário seja maior que 2mm. Caso a zona a intervir seja adjacente a um espaço edentulo, aplica-se a incisão cristal (Cortellini, 2012).

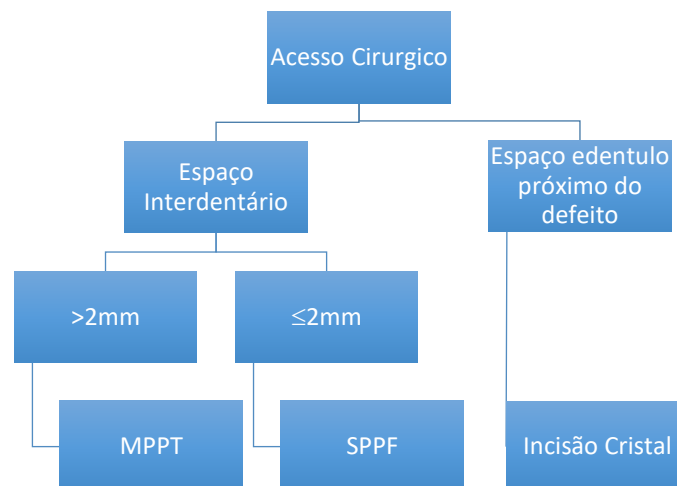


Figura 2 Esquema ilustrativo dos critérios necessários para a aplicação de cada técnica cirúrgica (MPPT, SPPF, Incisão Cristal). Adaptado de Cortellini, 2012.

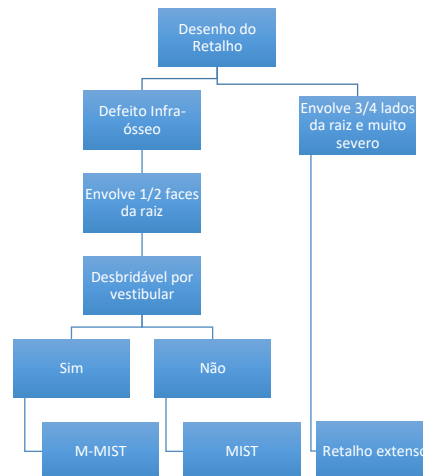


Figura 3 Esquema ilustrativo dos critérios que condicionam o desenho do retalho que é efetuado, tendo em contas as condicionantes locais do defeito infra-ósseo. Adaptado de Cortellini, 2012.

Para a escolha do desenho do retalho é necessário averiguar quantas faces da raiz são envolvidas pelo defeito infra-ósseo (Figura 3). Nos casos em que o defeito infra-ósseo envolve 1 a 2 faces da raiz, e o desbridamento pode ser realizado por um pequeno acesso vestibular, pode ser empregue a M-MIST. Quando o defeito também envolve a face lingual da raiz, e não é desbridável apenas por um acesso vestibular, poderá ser aplicada a MIST. Situações em que o defeito é muito grande, profundo e envolva todas as faces da raiz, por vestibular e lingual, necessitando de uma boa visibilidade para a instrumentação, será necessário recorrer a uma incisão periostal com incisões verticais de descarga(Cortellini, 2012).

A seleção do material regenerador utilizado é feita tendo em conta a anatomia do defeito e o tipo de retalho utilizado para ganhar acesso ao mesmo (Figura 4). Caso as condições locais tenham possibilitado a utilização da M-MIST, podem-se utilizar como materiais regeneradores as PDME ou até mesmo nenhum material regenerador(Cortellini, 2012).

Caso tenha sido utilizada a MIST e o defeito infra-ósseo seja contido, podem ser usadas apenas PDME. Nos casos em o defeito infra-ósseo não seja contido, deve ser utilizado um material de enxerto ósseo combinado com PDME(Cortellini, 2012).

Nas situações em que foi necessário elevar um retalho extenso, os materiais regeneradores a utilizar têm de fornecer estabilidade à zona operada, daí a utilização de



membranas ou materiais de enxerto ósseo, combinação de membranas e materiais de enxerto ósseo ou ainda combinação de materiais de enxerto ósseo com PDME(Cortellini, 2012).

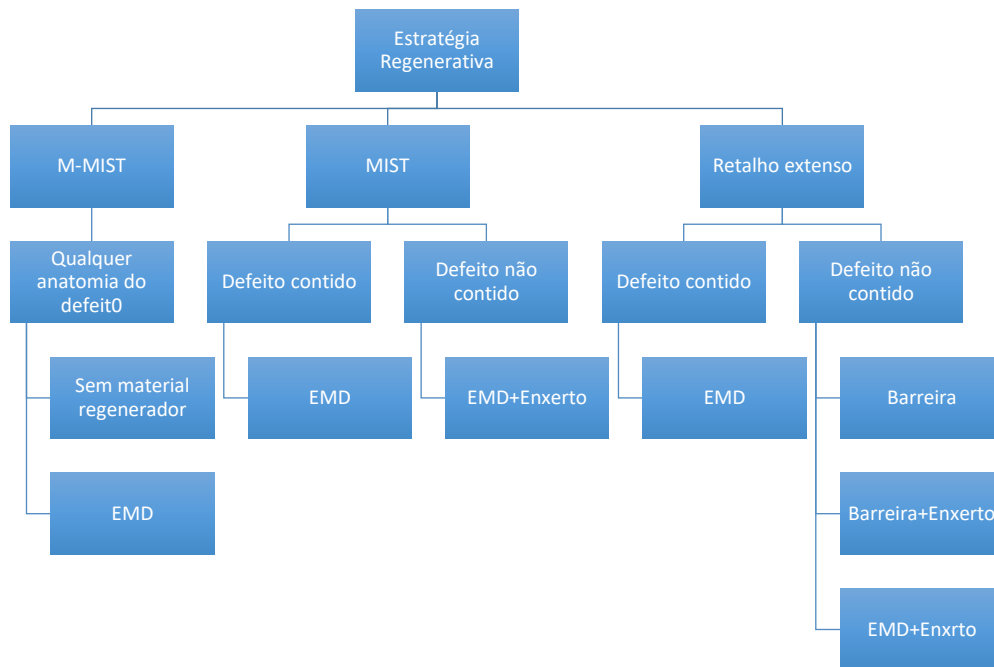


Figura 4 Esquema ilustrativo dos critérios anatômicos e cirúrgicos inerentes à utilização das diferentes estratégias regenerativas. Adaptado de Cortellini, 2012.

A técnica de sutura aplicada está relacionada com a abordagem regenerativa e a técnica cirúrgica (Figura 5). Caso tenha sido utilizada a M-MIST ou MIST, o retalho deve ser suturado com um ponto colchoeiro interno modificado, quando o material regenerador usado sejam as PDME isoladas. Nos casos que tenham sido abordados com um retalho extenso com uma incisão no periósteo e a técnica regenerativa envolva o uso de membranas, enxertos ou a combinação dos materiais anteriormente referidos, a sutura deverá ser feita com recurso a dois pontos de colchoeiro interno(Cortellini, 2012).

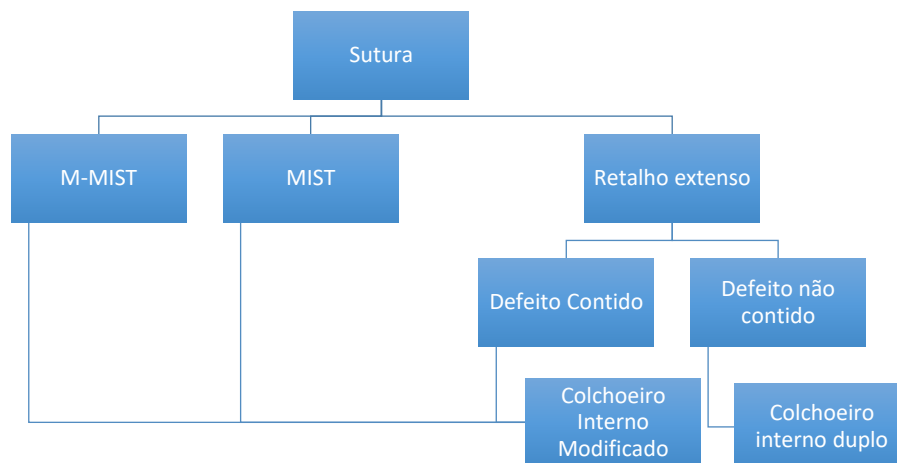


Figura 5 Esquema que ilustra a escolha do ponto de sutura mais indicado para as diferentes abordagens cirúrgicas. Adaptado de Cortellini, 2012.

### 5. *Conjugação de PDME com materiais de enxerto ósseo*

Tem-se observado que a utilização de materiais sem capacidade de manter espaço pode não ser suficiente para o tratamento de defeitos infra-ósseos profundos não contidos(Matarasso et al., 2015). Surgem preocupações relativamente à viscosidade das PDME, uma vez que esta pode não ser suficiente para evitar o colapso do retalho em defeitos periodontais com anatomia complicada. O colapso do retalho pode levar a uma limitação do espaço disponível para a regeneração, restringindo desta forma os resultados clínicos(Miron et al., 2014). Outra razão pela qual se tem feito a combinação de PDME com biomateriais ósseos é o potencial sinérgico de ambos os materiais(Li, Xiao, & Hu, 2012).

Siciliano et al., 2011, obteve resultados que indicam que em casos de defeitos infra-ósseos não contidos, a terapêutica com PDME não oferece tão bons resultados quando comparado com os resultados obtidos quando se utiliza uma membrana não reabsorvível reforçada com titânio, após um período de cicatrização de 12 meses. Concluíram que com a técnica cirúrgica de preservação da papila simplificada ou modificada, com aplicação de PDME, sem qualquer outro material de regeneração, oferece resultados menos favoráveis, em termos de ganho de nível de inserção clínico e redução da profundidade de sondagem, relativamente aos casos de defeitos infra-ósseos profundos não contidos quando uma membrana não reabsorvível reforçada com titânio foi utilizada(Siciliano et al., 2011).

Tabela 4 Alterações a nível de profundidade de sondagem e nível de inserção clínico em diferentes terapias regenerativas de defeitos não contidos. Nos casos de RTG foi utilizada uma membrana não reabsorvível reforçada com titânio. Tabela adaptada de Siciliano et al., 2011.

Parâmetro de estudo		Situação Inicial	Follow-up de 1 ano	Diferença
Profundidade de sondagem (mm)	PDME	9,4±2,3	6,5±1,4	2,9±2,1
	RTG	9,6±2,1	4,1±1,7	5,5±1,0
Nível clínico de inserção (mm)	PDME	10,5±2,3	8,1±1,2	2,4±2,2
	RTG	10,1±2,0	6,0±2,2	4,1±1,4

Diferentes combinações têm sido utilizadas na regeneração de defeitos infra-ósseos. Nestas combinações, tem-se utilizados materiais como (1) aloenxertos de osso desmineralizado liofilizado (DFDBA), (2) mineral de osso bovino desproteinizado (DBBM) e (3) materiais aloplásticos (Matarasso et al., 2015).

Em estudos *in vitro*, através de culturas de células às quais PDME foram adicionadas ao enxerto ósseo, observaram-se melhorias significativas na adesão, proliferação e diferenciação celular (Miron et al., 2014).

As PDME promovem a adesão e proliferação celular, expressão de fatores de crescimento, citocinas e matriz extracelular. Por outro lado, os biomateriais ósseos podem promover o potencial osteoindutivo no defeito, e manter o espaço para a regeneração óssea, impedindo o colapso do retalho (Li et al., 2012).

O material de enxerto ósseo ideal deve conceber e sustentar osso alveolar suficiente a longo prazo, ter baixa morbidade e complicações pós-operatórias, bem como levar pouco tempo a regenerar. O potencial regenerador dos enxertos ósseos é feito por três mecanismos, sendo que o material de enxerto ideal deve possuir os três. São a (1) osteocondutividade ou presença de uma matriz osteocondutora que permita que haja proliferação vascular e colonização celular, (2) osteoindutividade ou fatores osteoindutivos para que as células mesenquimais sejam induzidas a diferenciarem-se em células formadoras de osso maduras, (3) osteogenicidade ou presença de células osteogénicas no interior do material de enxerto que permitam a formação de matriz óssea (Miron et al., 2014).

### 5.1. PDME e enxerto ósseo autógeno

Trombelli et al., 2006, explorou a efetividade da terapia regenerativa de defeitos infra-ósseos profundos com enxerto de osso autógeno e PDME. Neste estudo foram incluídos apenas defeitos infra-ósseos não-contidos, predominantemente de 1 e de 2 paredes ósseas. Foram analisados 15 defeitos ósseos e reavaliados 6 meses depois da intervenção cirúrgica. O ganho de nível clínico de inserção foi estatística e clinicamente relevante, em comparação com a situação inicial (Tabela 5), em que mais de 50% dos defeitos apresentaram ganho clínico de inserção mínimo de 5 mm.

Tabela 5 Nível clínico de inserção ganho após cirurgia regenerativa com terapia de combinação de osso autógeno e PDME. (*p*-Significância das diferenças dos dados iniciais). Adaptado de Trombelli et al., 2006.

Nível clínico de inserção (mm)			
Pré-cirúrgico	Pós-cirúrgico	Diferença	<i>p</i>
10,5±2,0	6,2±1,7	4,3±1,4	0,0000

Biópsias humanas de defeitos infra-ósseos demonstraram o potencial regenerativo do enxerto de osso autógeno a nível de preenchimento ósseo e formação de cimento(Trombelli et al., 2006).

A utilização deste material de enxerto envolve a colheita do mesmo, de um outro local do próprio doente. O osso autógeno tem como vantagens o potencial osteoindutivo, a possibilidade de ser usado em blocos ou particulado, e a incorporação de células osteogénicas dentro da matriz óssea. Apresenta porém limitações a nível de morbilidade do local dador(Miron et al., 2014).

Yilmaz et al., 2010, mostraram que o tratamento dos defeitos infra-ósseos com terapia combinada de PDME+OA e PDME isoladas levaram a melhorias clínicas estatisticamente significativas (Tabela 6). Os dados obtidos demonstraram que a terapia combinada resultou em melhorias estatisticamente significativas a nível de redução da profundidade de sondagem, ganho de nível de inserção clínico e nível de sondagem óssea comparativamente com a terapia com PDME isoladamente(Yilmaz, Cakar, Yildirim, & Sculean, 2010).

Tabela 6 Parâmetros clínicos iniciais e de 1 ano após a cirurgia de regeneração periodontal. (PDME-proteínas derivadas da matriz do esmalte; OA-osso autógeno; *p*-valor de significância). Tabela adaptada de Yilmaz et al., 2010.

		Situação Inicial	Após 1 ano	Diferença	Significância
Profundidade de Sondagem (mm)	PDME+OA	8,4±1,2	2,8±1,1	5,6±0,9	<0,001
	PDME	8,2±0,7	3,5±0,6	4,6±0,4	<0,001
	Valor <i>p</i>			<0,01	
Nível de inserção clínico (mm)	PDME+OA	11,7±1,0	7,5±0,7	4,2±1,1	<0,001
	PDME	11,3±0,9	7,8±1,1	3,4±0,8	<0,001
	Valor <i>p</i>			<0,01	
Nível ósseo à sondagem (mm)	PDME+OA	12,3±1,0	8,3±0,6	3,9±1,0	<0,001
	PDME	12,1±0,9	9,2±1,0	2,8±0,8	<0,001
	Valor <i>p</i>			<0,01	

### 5.2.PDME e enxerto ósseo alógeno

Os aloenxertos envolvem a colheita de osso de outro ser humano, diferente daquele que vai receber o enxerto. No mercado existem três tipos de aloenxertos ósseos: (1)osso fresco ou fresco congelado, (2)aloenxerto de osso liofilizado e (3)aloenxerto de osso desmineralizado liofilizado(DFDBA)(Miron et al., 2014).

Quanto a vantagens, este material de enxerto prima pela sua disponibilidade, quando comparado com o osso autólogo, a ausência de morbidade do local dador e o conteúdo de fatores de crescimento osteoindutivos e citocinas na matriz óssea. Como desvantagens encontra-se a possibilidade de transmitir doenças e a ausência de células osteogênicas(Miron et al., 2014).

O DFDBA tem sido usado isolado ou combinado com outras modalidades terapêuticas de modo a proporcionar a regeneração periodontal. Demonstrou-se que este material de enxerto goza de propriedades osteocondutora e osteoindutora(Gurinsky, Mills, & Mellonig, 2004).

A razão subjacente à conjugação destes dois materiais, PDME e DFDBA, baseia-se na hipótese de que os dois processos de cicatrização distintos, osteoindutivo e/ou osteocondutivo, juntamente com a promoção da regeneração periodontal, respetivamente, possam ocorrer simultaneamente, resultando num efeito sinérgico. O material de enxerto ajuda a ultrapassar o risco de colapso do retalho após a aplicação de PDME, melhorando a estabilidade da ferida, mantendo o espaço necessário para o processo de regeneração, permitindo simultaneamente que as PDME promovam o processo regenerativo(Aspriello, Ferrante, Rubini, & Piemontese, 2011).

Boyan et al., 2000, descobriu que a adição de 4mg de PDME a DFDBA ativado aumentou a indução de osso e a formação de novo osso em todas as amostras examinadas implantadas em músculos da perna de ratos, comparando com a aplicação de DFDBA ativado sozinho(Boyan et al., 2000).

A presença de proteínas ósseas morfogênicas (BMP's), no interior do material de enxerto ajuda a migração e adesão de células mesenquimais e a osteogênese quando é implantado nos defeitos ósseos(Gurinsky et al., 2004).

Clinicamente, o DFDBA mostrou-se capaz de reduzir a profundidade de sondagem dos defeitos ósseos em mais de 50%. Estudos histológicos mostraram evidência de neoformação das estruturas de suporte do dente, revelando a capacidade deste material de regenerar cimento, ligamento periodontal e osso(Gurinsky et al., 2004).

A conjugação de PDME com DFDBA levam a maiores preenchimentos ósseos e menor reabsorção cristal. Os locais tratados com terapia conjugada exibiram preenchimento ósseo mais denso, observado aquando da exploração cirúrgica, do que em locais tratados apenas com PDME(Gurinsky et al., 2004).

Aspriello et al., 2011, concluiu que com a terapia conjugada, com um “follow-up” de 12 meses, existiram melhorias estatisticamente significativas a nível de redução de PS e ganho de nível clínico de inserção em comparação com casos em que a terapia aplicada foi apenas DFDBA(Aspriello et al., 2011)

Tabela 7 Médias dos valores obtidos através de medições radiográficas dos defeitos ósseos no estado inicial e 12 meses após a cirurgia regenerativas com as diferentes abordagens (n=28 para cada grupo). (DFDBA-aloenxerto de osso desmineralizado liofilizado; PDME-proteínas derivadas da matriz do esmalte). Adaptado de Aspriello et al., 2011.

Tratamento	Situação inicial	“Follow-up” de 12 meses	Valor p
Profundidade de Sondagem (mm)			
DFDBA+PDME	9,0 (2,125)	4,0 (1,5)	<0,001
DFDBA	8,5 (1,625)	4,75 (1,375)	<0,001
Nível de inserção clínico (mm)			
DFDBA+PDME	8,5 (1,75)	4,5 (2,125)	<0,001
DFDBA	8,0 (2,5)	4,5 (3,25)	<0,001

### 5.3.PDME e enxerto ósseo xenógeno

Os materiais de enxerto ósseo xenógeno são substitutos ósseos que derivam de outras espécies, como animais. Um exemplo deste tipo de enxertos é o mineral ósseo natural, que consiste em matriz óssea inorgânica mineral altamente purificada de origem

bovina, com o nome comercial Bio-oss® (Geitlich Biomaterials)(Miron et al., 2014).

O mineral de osso poroso bovino (BPBM) é um material utilizado na regeneração periodontal, que é obtido através da extração do componente proteico do osso bovino(Lekovic et al., 2000), mantendo a sua arquitetura natural(Zucchelli, Amore, Montebugnoli, & De Sanctis, 2003), resultando uma estrutura similar ao osso esponjoso humano com capacidade de promover a formação óssea(Lekovic et al., 2000). É o material de enxerto ósseo mais semelhante ao osso esponjoso humano, quando comparado com outros materiais alógenos, em aspetos como a superfície interna, porosidade, tamanho cristalino e rácio cálcio/fósforo(Zucchelli et al., 2003).

Zucchelli et al., 2003, comparou os resultados clínicos obtidos na terapia com PDME com os resultados da terapia com PDME conjugadas com BPBM (Tabela 8). Concluiu que existe um efeito positivo na utilização de BPBM, melhorando os resultados obtidos a nível do tecido duro.

Tabela 8 Médias dos valores obtidos 1 anos após cirurgia periodontal regenerativa, obtidas nas duas modalidades de tratamento. (PDME-Proteínas derivadas da matriz do esmalte; BPBM-Mineral de osso poroso bovino). Adaptado de Zucchelli et al., 2003.

	PDME (controlo) (n=30)	PDME+BPBM (teste) (n=30)	<i>p</i>
Nível clínico de inserção	4,9±1,0 mm	5,8±1,1 mm	<0,01
Profundidade de sondagem	5,8±0,8 mm	6,2±0,4 mm	NS
Recessão	0,9±0,5 mm	0,4±0,6 mm	<0,01
Preenchimento do defeito	4,3±1,5 mm	5,3±1,1 mm	<0,01

#### ***5.4.PDME e enxerto ósseo aloplástico***

Pietruska et al., 2011, comparou o tratamento de defeitos infra-ósseos com PDME isoladas e a sua combinação com fosfato de cálcio bifásico. A análise estatística dos resultados não evidenciou diferenças entre as duas modalidades terapêuticas em nenhum dos parâmetros em estudo (Tabela 9)(Pietruska et al., 2012).

Tabela 9 Médias dos valores iniciais e obtidos após a cirurgia regenerativa nos dois grupos de estudo. (PDME-proteínas derivadas da matriz do esmalte; BCP-fosfato de cálcio bifásico). Tabela adaptada de Pietruska et al., 2012.

Tratamento	Situação inicial	“Follow-up” de 1 ano	“Follow-up” de 4 anos
Profundidade de Sondagem (mm)			
PDME+BCP (n=12)	8,8±1,5	4,3±0,9	4,7±0,8
PDME (n=12)	8,8±1,0	4,1±0,5	4,4±0,8
Nível clínico de inserção (mm)			
PDME+BCP (n=12)	10,8±1,6	7,4±1,6	7,8±1,7
PDME (n=12)	10,4±1,3	6,9±1,0	7,2±1,2

Resultados semelhantes foram observados por Meyle, 2011, que também comparou as duas modalidades de tratamento (Meyle et al., 2011). Jepsen, 2008, também não encontrou diferenças estatísticas que demonstrassem que a adição de um material de enxerto sintético às PDME se traduzisse numa mais-valia (Jepsen et al., 2008).

## 6. Complicações pós-operatórias

Graças ao uso de proteínas derivadas da matriz do esmalte, bem como de técnicas cirúrgicas cada vez menos invasivas, o aparecimento de complicações e efeitos colaterais locais durante o período pós-operatório diminuiu largamente (Cortellini, 2012).

O desconforto pós-operatório não é influenciado pelo tipo de material regenerador, mas sim pela técnica cirúrgica utilizada. Uma cirurgia mais curta e minimamente invasiva está associada a poucas complicações pós-operatórias (Tabela 10) (Cortellini, 2012).

No estudo de Tonetti, 2004, os dados obtidos retrataram que em retalhos de preservação de papila, usados isoladamente ou combinados com PDME para tratar defeitos infra-ósseos, parecem estar associadas a pouca dor ou desconforto intra e pós-operatório. A morbidade pós-operatória, ou seja, interferência com atividades diárias foi detetada numa minoria de pacientes. Quando presente, tinha em média uma duração de 3-3,5 dias. Estes dados foram consistentes com a percepção por parte do profissional do processo de cicatrização, não tendo sido detetada supuração. Edema e hematoma foram ocorrências raras e apenas detetadas com observação intra-oral. Os dados recolhidos neste estudo indicam que os retalhos de preservação de papila, usados isoladamente ou combinados com PDME, cicatrizam com muito poucas complicações. Foi também possível inferir que pequenas complicações pós-operatórias que possam ocorrer, não afetam significativamente os resultados da cirurgia (Tonetti et al., 2004).

O evento desconfortável reportado por 45% dos pacientes testados foi a



sensibilidade radicular, porém esta sensibilidade diminuía progressivamente com o passar do tempo, pouco após o aparecimento (Tonetti et al., 2004).

Tabela 10 Tabela indicativa da morbidade dos pacientes durante e após a cirurgia em diferentes abordagens terapêuticas regenerativas. (SPPF-retalho simplificado de preservação da papila; MPPT-técnica modificada de preservação da papila; PDME-proteínas derivadas da matriz do esmalte; MIST-técnica cirúrgica minimamente invasiva; M-MIST-técnica cirúrgica minimamente invasiva modificada). Adaptado de Cortellini, 2012.

	Cortellini <i>et al</i> 2001	Tonetti <i>et al</i> 2004	Cortellini <i>et al</i> 2007	Cortellini & Tonetti 2011
Abordagem Regenerativa	SPPF/MPPT + Barreiras Reabsorvíveis	SPPF/MPPT + PDME	MIST + PDME	M-MIST + PDME
Número de Pacientes	56	83	40	15
Tempo operatório, min	99±46	80±34	58±11	54,2±7,4
Interferência com atividades diárias	35,7%	29,5%	7,5%	0
Indivíduos com desconforto pós-operatório	53,6%	47,5%	17,5%	13,3%
Indivíduos com dor pós-operatória	46%	50%	30%	0
Intensidade da dor	28,1±2,5	28±20	19±10	—
Número de analgésicos	4,1±2,5	4,3±4,5	1,1±2	0,3±0,6

### **6.1. Fatores que influenciam os resultados da cirurgia**

Hoje sabe-se, que o insucesso das terapias regenerativas se traduz por fatores associados aos doentes, uso inadequado de materiais e técnicas cirúrgicas, capacidade insuficiente e falta de experiência por parte do clínico (Cortellini & Tonetti, 2014).

As principais causas de variabilidade clínica são os pacientes (Figura 6), o defeito ósseo e fatores associados à própria cirurgia (Cortellini & Tonetti, 2014).

#### **6.1.1. Fatores associados ao doente**

A evidência científica sugere que a capacidade do doente em controlar a periodontite está associada aos resultados clínicos resultantes da cirurgia periodontal regenerativa. A presença de um controle de placa deficiente, níveis elevados de hemorragia à sondagem e também a persistência de elevadas cargas bacterianas ou de patógenos específicos são fatores que levam à persistência da doença periodontal. Todos estes fatores foram associados de uma forma dose-dependente aos resultados

insatisfatórios obtidos nos tratamentos periodontais(Cortellini & Tonetti, 2014).

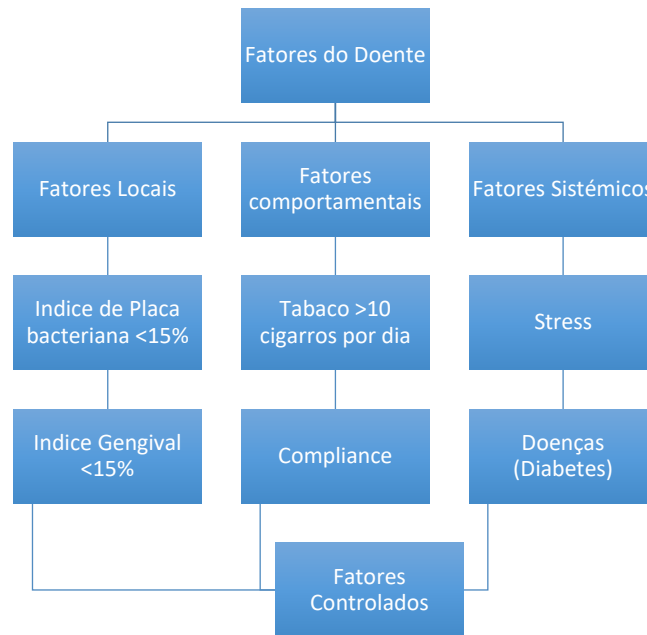


Figura 6 Representação esquemática dos fatores associados ao doente, que devem ser controlados antes de qualquer intervenção regenerativa. Adaptado de Cortellini & Tonetti, 2014.

Está comprovado que terapias regenerativas em fumadores se traduzem em resultados pouco satisfatórios, quando comparados com os mesmos procedimentos realizados em indivíduos não fumadores. Conseguiu-se associar aos fumadores ganhos reduzidos a nível de adesão periodontal. O ganho de inserção clínica em fumadores, que consumam mais de 10 cigarros por dia, foi de  $2,1 \pm 1,9\text{mm}$ . Concluíram que o hábito tabágico prejudicou o ganho de inserção clínica de uma forma dose-dependente(Cortellini & Tonetti, 2014).

Tonetti *et al.*, 2004, indicou que em pacientes cumpridores com o programa de cuidados e suporte periodontal, conseguiam manter os resultados obtidos pela cirurgia periodontal regenerativa mais de 10 anos. A perda de dentes severamente afetados por defeitos infra-ósseos regenerados foi frequente e apenas observado em fumadores(Tonetti *et al.*, 2004).

### **6.1.2. Fatores associados ao defeito ósseo**

A morfologia do defeito é também um fator determinante do decurso da terapia periodontal regenerativa dos defeitos infra-ósseos. A evidência atual defende que a profundidade do defeito influencia a quantidade de inserção clínica e ganho ósseo, ou seja, quanto maior a distância corono-apical do defeito ósseo, superior será a melhoria clínica. No entanto, tanto defeitos profundos, ou seja com componente ápico-coronal aumentado, como superficiais, com componente ápico-coronal reduzido, demonstram potencial regenerativo(Cortellini & Tonetti, 2014).

Outra característica importante da morfologia do defeito é a largura, no sentido mesio-distal, do mesmo. Esta característica é medida pelo ângulo que se forma entre a parede óssea do defeito e o longo eixo do dente. Sendo assim, aos defeitos cujo componente mesio-distal é maior, associam-se a um ganho menor a nível ósseo, bem como de inserção clínica(Cortellini & Tonetti, 2014).

A morfologia dos defeitos ósseos é de extrema importância no que remete à capacidade regenerativa do próprio defeito, influenciando de forma direta os resultados clínicos. Na literatura é referido que a aplicação de materiais sem capacidade de manter espaço como as PDME não estão indicadas para a regeneração de defeitos infra-ósseos não contidos(Iorio-siciliano et al., 2014).

## **7. Evidência científica do tema**

Para a pesquisa bibliográfica primária sobre o tema recorreu-se à base de dados Pubmed, onde foi pesquisado pelos termos base “Emdogain”, “Enamel Matrix Derivative”, “Emdogain periodontal regeneration” e “Emdogain AND periodontal regeneration”.

Da pesquisa na base de dados Pubmed pelo termo “Emdogain” surgiram 965 publicações. Ao aplicar os filtros “10 years” e “Humans” restaram apenas 332 publicações (Ilustração 7).

Seguindo a pirâmide de evidência científica foi aplicado o filtro “Meta-Analysis” restando apenas 16 publicações. Foram descartadas as publicações que não iam ao encontro do tema em estudo, num total de 9 “Meta-Analysis”. Meta-análises com títulos como “Root coverage (...) with connective tissue graft and/or enamel matrix derivative”, “Root coverage procedure” e “Periodontal plastic surgery” não foram incluídas na bibliografia primária. Após este processo de seleção foram incluídas apenas 7 meta-análises na bibliografia primária. Estas tinham títulos como “Periodontal regeneration of intrabony defects”, “Enamel matrix derivative alone versus in combination with bone grafts” e “Enamel matrix derivatives, guided tissue regeneration and their combination therapies”.

O passo seguinte foi aplicar o filtro de “Systematic Reviews”, ao que de 332 publicações apenas 36 se encaixavam neste grupo. Destas 36 Revisões Sistemáticas foram selecionadas 9 publicações, através da aplicação do mesmo critério utilizado na seleção das Meta-análises.

Finalmente, foi aplicado o filtro “Randomized Controlled Trial” restando apenas 66 publicações. Destas foram selecionadas 7 publicações, aplicando o mesmo critério relativamente aos títulos, tal como foi feito na seleção das Meta-análises.

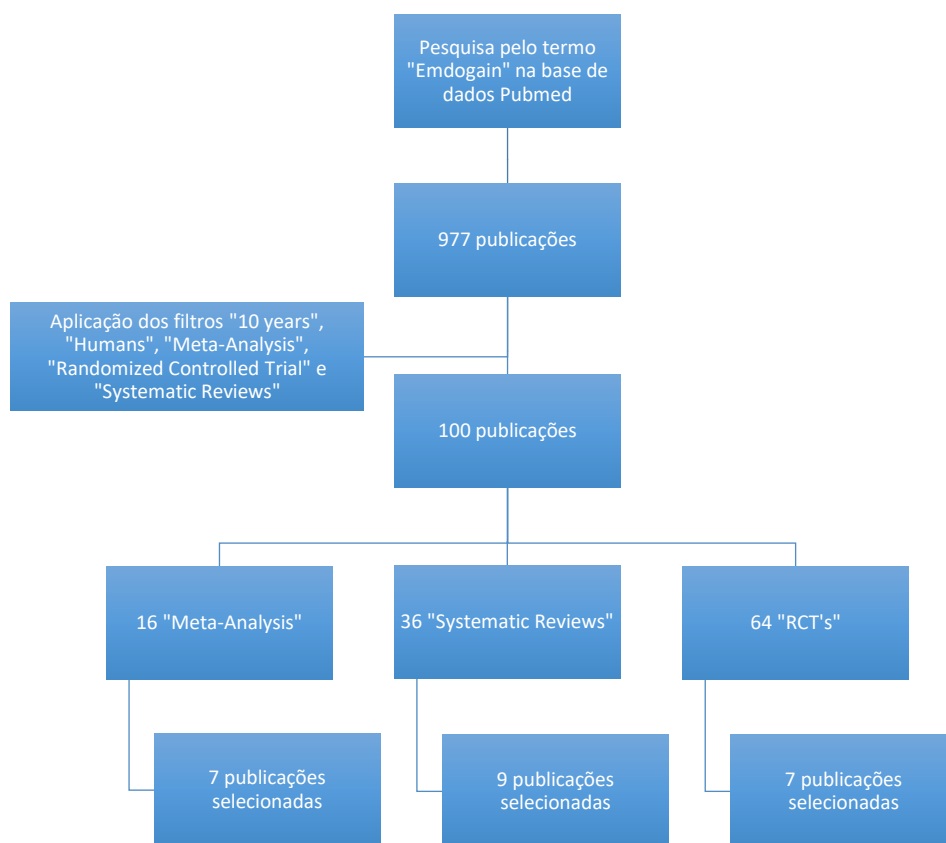


Figura 7 Esquema representativo do processo de seleção das publicações utilizadas como bibliografia primária.



## **II. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **1. Considerações éticas**

Para a realização do presente estudo foi pedida cedência, à Direção Clínica da Clínica Dentária Egas Moniz para consulta, dos processos clínicos e dos dados presentes nos mesmos.

Os doentes incluídos nesta investigação tinham, previamente à cirurgia periodontal regenerativa, assinado o consentimento informado, na consulta da Pós-graduação de Periodontologia, tendo permitido que os seus dados clínicos fossem utilizados para fins científicos.

### **2. Local do estudo**

Este estudo foi desenvolvido na Clínica Dentária Egas Moniz, localizada no Campus Universitário Egas Moniz – Cooperativa de Ensino Superior, CRL, no Monte de Caparica.

### **3. Tipo de estudo**

O presente estudo é do tipo observacional analítico retrospectivo.

### **4. Amostra do estudo**

Para a recolha dos dados necessários para este trabalho foram utilizados os processos clínicos de doentes tratados na Consulta de Pós-graduação de Periodontologia da Clínica Dentária Egas Moniz, que tenham realizado cirurgia de regeneração periodontal, com recurso a Proteínas Derivadas da Matriz do Esmalte (Emdogain®), entre os anos 2012 e 2016.

### **5. Estudo**

#### **5.1. Objetivos do estudo**

Este estudo tem como objetivos avaliar clínica e radiograficamente os resultados obtidos através da regeneração periodontal de defeitos verticais infra-ósseos, através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), na prática clínica universitária com um período de observação de 12 meses.

As hipóteses de desfecho estabelecidas foram:

- Hipótese Nula (H0) - A regeneração de defeitos infra-ósseos verticais periodontais através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) não apresentou resultados clínicos e radiográficos satisfatórios e o ganho de inserção clínico obtido não é mantido a longo-prazo;
- Hipótese Teste (H1) - A regeneração de defeitos infra-ósseos verticais periodontais através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) apresenta resultados clínicos e radiográficos satisfatórios e o ganho de inserção clínico obtido é mantido a longo-prazo.

### **5.2.Amostra**

Para o presente estudo foram selecionados 13 doentes, do sexo feminino e masculino, com defeitos infra-ósseos verticais de duas e três paredes ósseas, cujas características clínicas respeitavam os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos.

### **5.3.Critérios de inclusão**

Os pacientes selecionados para a participação neste estudo tinham de cumprir com os seguintes critérios:

- Pacientes com idade  $\geq 18$  anos;
- Pacientes sem doenças sistêmicas que pudessem influenciar a cicatrização ou a progressão da doença periodontal (diabetes mellitus, artrite reumatoide, cancro);
- Pacientes que não tenham tomado antibióticos nos 6 meses anteriores à cirurgia periodontal regenerativa;
- Ausência de contraindicações para a cirurgia periodontal regenerativa;
- Ausência de historial de cirurgia periodontal na região dentária envolvida;
- $IP < 15\%$  e  $IG < 15\%$ ;
- Profundidade de sondagem (PS)  $\geq 5\text{mm}$  associado a um defeito infra-ósseo com profundidade  $\geq 3\text{mm}$  e largura  $\geq 2\text{mm}$  medido na radiografia periapical;
- Ângulo do defeito infra-ósseo máximo de  $35^\circ$  medido na radiografia periapical;
- Presença de defeito interproximal de 2 ou de 3 paredes;
- Pacientes complacentes com as consultas de manutenção;
- Ausência de mobilidade de grau 3;



- Pacientes que compreendam o significado de consentimento informado antes da realização de qualquer intervenção cirúrgica.

#### ***5.4. Critérios de exclusão***

Foram excluídos do estudo todos os pacientes que possuíssem qualquer um dos seguintes critérios de exclusão:

- Fumadores;
- Mulheres grávidas e lactantes;
- Pacientes não complacentes com a primeira fase do tratamento periodontal;
- Envolvimento de lesões de furca;
- Presença de qualquer doença sistémica que possa interferir com o tratamento periodontal;
- Tratamento com antibiótico nos 6 meses antes da cirurgia;
- Presença de complicações endodônticos não tratadas;
- Historial de terapia de radiação local.

#### ***5.5. Procedimentos clínicos***

Todos os doentes foram avaliados periodontalmente, através da avaliação de IP e IG em todas as consultas, realização do periodontograma e status radiográfico. Foi feita destarização e alisamento radicular das zonas afetadas, e dadas indicações de higiene.

Todos as cirurgias regenerativas foram realizadas por Médicos Dentistas que frequentaram a Pós-graduação de Periodontologia da Clínica Dentária Egas Moniz. Foi feita elevação de um retalho de espessura total, com incisão intra-sulcular. O defeito infra-ósseo foi desbridado com recurso a curetas e a raiz do dente associado ao defeito foi descontaminada, de forma a remover toda a placa bacteriana e cálculo remanescentes. A ferida operatória foi lavada com solução salina estéril.

Num dos grupos de doentes, a raiz associada ao defeito foi condicionada com gel de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 24% (pH 6,7; Prefgel® Straumann) durante dois minutos. O defeito foi depois lavado com solução salina estéril, seco com compressas esterilizadas e o gel de Emdogain® (Straumann) aplicado segundo as indicações do fabricante. Finalmente, os retalhos foram reposicionados e suturados com “nylon” 5-0. As suturas foram removidas após um período de 14 dias.

No outro grupo de doentes, a raiz associada ao defeito foi condicionada com gel de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 24% (pH 6,7; Prefgel® Straumann). O defeito foi depois lavado com solução salina, seco com compressas esterilizadas e feita a aplicação de gel de Emdogain® (Straumann) conjugado com um material de enxerto ósseo aloplástico (OSTEON™, GenOss). Por último, foram reposicionados os retalhos e suturados com “nylon” 5-0. Após um período de 14 dias, as suturas foram retiradas.

A todos os pacientes foi prescrito colutório e gel com clorhexidina 0,2% durante duas semanas, para haver controlo químico da placa bacteriana. Foram também instruídos a não realizar bochechos no dia da cirurgia. Os bochechos, com o colutório prescrito só teriam início 48 horas após a cirurgia, 2 a 3 vezes ao dia.

Após 12 meses foi efetuada uma radiografia periapical de controlo da zona intervencionada, com recurso a paralelizador e sondagem da zona com sonda periodontal graduada CP12 Hu-Friedy.

### ***5.6. Material***

Para a execução deste estudo foi necessário o seguinte material:

- Régua de endodontia Miltex Dental, USA, 1/2mmp;
- Esquadro.

### ***5.7. Calibração do observador***

Com o objetivo de minimizar o erro na obtenção dos dados clínicos, foi necessário calibrar o observador. A calibração para a análise das radiografias periapicais, foi feita através de medições sucessivas das dimensões de defeitos infra-ósseos, com intervalos de 30 minutos entre cada medição, calculando-se a média dos valores medidos. O observador atingiu um desvio padrão  $<0,5\text{mm}$ .

## ***6. Variáveis analisadas***

Foram registadas as seguintes variáveis preditivas:

- Idade e sexo dos doentes;
- Material regenerador utilizado;
- Ângulo do defeito infra-ósseo através da radiografia periapical;
- Grau de mobilidade dentária;

- Medições das sondagens obtidas antes da cirurgia e 12 meses após a mesma, em três localizações vestibulares e linguais;
- Medições da dimensão dos defeitos infra-ósseos antes da cirurgia e 12 meses após a mesma, obtidas na radiografia periapical.

Nos casos em que os dentes associados a um defeito infra-ósseo, que tenha sido feita cirurgia periodontal regenerativa, foram extraídos, consideraram-se como casos de insucesso, caso a razão da extração tenha sido o grau de mobilidade aumentado (Grau 3).

### **7. Avaliação radiográfica do defeito infra-ósseo**

Para a avaliação radiográfica recorreu-se a radiografias periapicais, realizadas antes da cirurgia e após 12 meses. Para isto recorreu-se à técnica paralela, de forma a que a angulação da incidência radiográfica fosse o mais semelhante possível. Todas as imagens radiográficas foram examinadas pelo mesmo observador calibrado.

A análise radiográfica foi baseada na identificação de pontos anatómicos. Os pontos anatómicos em questão são a junção amelocementária(JAC), a base do defeito periodontal(BD), a crista óssea(CO) e o topo do defeito regenerado(TDR).

Foram avaliados os seguintes parâmetros, através das radiografias tiradas antes de qualquer intervenção cirúrgica e passado um período de 12 meses:

1. Distância entre a JAC até à base do defeito(BD). A base do defeito é identificada pela zona mais coronal em que o espaço correspondente ao ligamento periodontal, possui uma largura consistente com o resto da raiz (Figura 8A);
2. Distância desde a JAC até ao topo do defeito regenerado(TDR) (Figura 8C);
3. Avaliação do ângulo do defeito periodontal através de duas linhas, uma que representa a parede dentária(BD-JAC) e outra que acompanha a parede do defeito periodontal(BC-CO) (Figura 8B).

As medições radiográficas foram feitas com recurso a uma régua de oclusão e um esquadro, utilizados em todas as radiografias periapicais. Para a medição da quantidade de osso ganho em altura de preenchimento do defeito infra-ósseo, foi feita a diferença entre a distância desde a junção amelocementária (JAC) e a base do defeito (BD) e a distância desde a junção amelocementária (JAC) até ao topo do defeito regenerado (TDR) (JAC/BD – JAC/TDR).

As medições têm em comum a JAC visto que é uma estrutura anatómica que permanece inalterada ao longo do período do estudo.

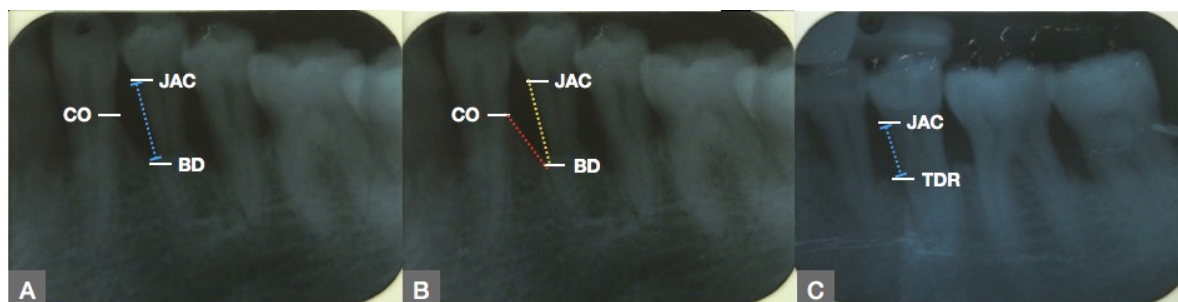


Figura 8 Representação esquemática dos pontos anatômicos, nas radiografias iniciais (A e B) e na radiografia efetuada 12 meses após o tratamento periodontal regenerador (B). Figura B representação o ângulo do defeito infra-ósseo, formado entre a parede dentária e a parede remanescente do defeito infra-ósseo; (JAC - Junção amelocementária; CO Crista óssea; BD - Base do defeito; TDR - Topo do defeito regenerado).

## 8. Análise Estatística

Alguns dos doentes incluídos neste estudo possuíam mais do que um dente com defeito infra-ósseo associado. Por este motivo, para a análise estatística, foi contabilizado cada defeito como sendo um indivíduo e colocado no respetivo grupo de estudo.

Os dados obtidos foram reunidos numa base de dados feita no programa Excel® (Versão 15.28) e a análise estatística feita no *software* IBM SPSS™ (*Statistical Package for the Social Sciences*) (versão 24).

Para além da análise estatística descritiva, através de medidas absolutas, médias e desvio padrão, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, de forma a estabelecer a correlação entre as variáveis estudadas (idade, mobilidade dentária, ângulo do defeito infra-ósseo, preenchimento do defeito infra-ósseo).

O teste U de Mann-Whitney foi aplicado para a análise entre os valores médios de preenchimento ósseo obtidos pela cirurgia periodontal regenerativa, em função da abordagem cirúrgica utilizada. Foi utilizado o teste comparativo não paramétrico U de Mann-Whitney, visto que os valores de preenchimento do defeito infra-ósseo não seguiam uma distribuição normal.

Para a comparação entre as médias da diferença entre as profundidades de sondagem iniciais e as profundidades de sondagem passados 12 meses da cirurgia periodontal regenerativa, foi utilizado o teste comparativo paramétrico T-Student, visto que estes valores seguiam uma distribuição normal.

Utilizou-se como referência  $p < 0,05$  para verificar a relação entre as variáveis estudadas.

### III. RESULTADOS

No presente estudo participaram 13 doentes, de ambos os sexos (Figura 9), sujeitos a cirurgia periodontal regenerativa de defeitos infra-ósseos verticais, nos quais o material de regeneração periodontal empregue foram as proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®). No total foram contabilizados e medidos 21 defeitos infra-ósseos.

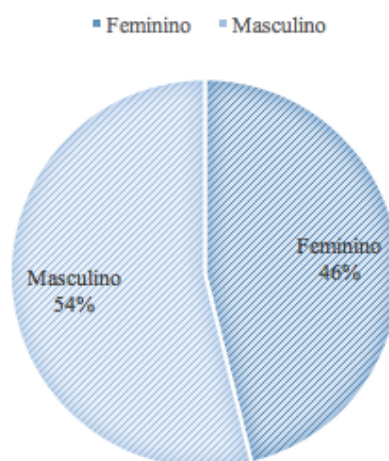


Figura 9 Percentagem de indivíduos de cada género na amostra estudada.

Os doentes incluídos no estudo foram divididos em dois grupos, o grupo em que os dentes foram tratados apenas com Emdogain® e o grupo em que os dentes foram tratados com Emdogain® conjugado com Osteon™.

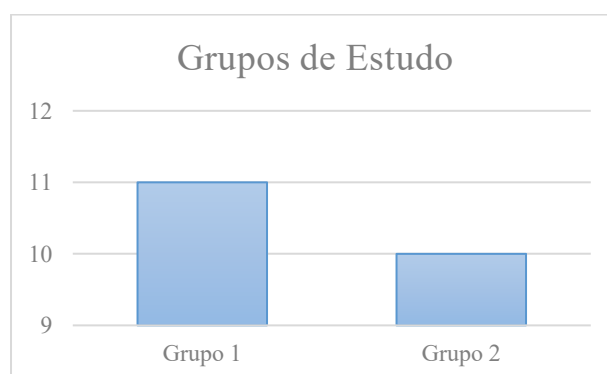


Figura 10 Numero de doentes presentes em cada grupo de estudo. (Grupo 1- dentes tratados com Emdogain®; Grupo 2- dentes tratados com Emdogain® e Osteon™).

Os defeitos infra-ósseo, incluídos neste estudo caracterizavam-se por uma profundidade média inicial de  $9,26 \pm 1,996\text{mm}$  (Tabela 11). A média do ângulo do defeito inicial foi de  $29,95^\circ \pm 4,428^\circ$  (Tabela 11).

Tabela 11 Descrição do defeito infra-ósseo inicial, do defeito infra-ósseo 12 meses após a cirurgia regenerativa e descrição do ângulo do defeito infra-ósseo.

Raio X inicial		Ângulo do defeito infra-ósseo	
Média (mm)	$9,26 \pm 1,996$	Média (graus)	$29,95 \pm 4,428$
Máximo (mm)	13	Máximo (graus)	35
Mínimo (mm)	6	Mínimo (graus)	22

No grupo 1, a média de preenchimento ósseo do defeito periodontal foi de 2,33mm com um desvio padrão de 1,732mm. No grupo 2, a média de preenchimento ósseo do defeito periodontal obtida foi de 3,50mm com um desvio padrão de 1,269mm (Tabela 12).

Tabela 12 Média do preenchimento ósseo do defeito regenerado nos diferentes grupos de estudo (medidas em mm).

Preenchimento ósseo do defeito (mm)	Emdogain®	Média	$2,33 \pm 1,732$
		Mínimo	1
		Máximo	6
	Emdogain®+Enxerto	Média	$3,50 \pm 1,269$
		Mínimo	1
		Máximo	6

Pela aplicação do teste comparativo não paramétrico U de Mann-Whitney obteve-se uma significância (p) de 0,071. Este valor indica que não há diferenças significativas entre as duas técnicas regenerativas a nível de preenchimento ósseo (Tabela 12).

Tabela 13 Teste U de Mann-Whitney para o osso regenerado entre grupos de material de enxerto.

	Osso Regenerado
U de Mann-Whitney	23,500
Wilcoxon W	68,500
Z	-1,805
Significância Assint. (Bilateral)	,071

Através do teste de correlação de Spearman tentou-se verificar se alguma das variáveis preditivas do estudo influenciaria a regeneração dos defeitos infra-ósseos. Nenhuma das variáveis preditivas em estudo parece influenciar a quantidade de osso regenerado. Pretendeu-se avaliar a correlação entre o preenchimento do defeito infra-ósseo e a idade (Tabela 14), o ângulo do defeito (Tabela 15) e a mobilidade dentária (Tabela 16).

Tabela 14 Correlação entre a idade do doente e o osso regenerado.

			Osso Regenerado
ró de Spearman ( $\rho$ )	Idade	Coefficiente de correlação	-,158
		Significância (p)	,518
		N	19

Tabela 15 Correlação entre o ângulo do defeito infra-ósseo e o osso regenerado.

			Osso Regenerado
ró de Spearman ( $\rho$ )	Ângulo do defeito infra-ósseo	Coefficiente de correlação	-,103
		Significância (p)	,674
		N	19

Tabela 16 Correlação entre a mobilidade dentária e o osso regenerado.

			Osso Regenerado
ró de Spearman	Mobilidade	Coefficiente de correlação	-,330
		Significância	,168
		N	19

Após a análise dos dados obtidos, referentes à profundidade de sondagem, concluiu-se que tendo em conta a situação inicial, houve uma diminuição da profundidade de sondagem média ( $1,52 \pm 1,788\text{mm}$ ). Entre os dois grupos de estudo as médias da redução da profundidade de sondagem foram semelhantes (Tabela 17).

Tabela 17 Média da redução da profundidade de sondagem nos diferentes grupos de estudo.

	Grupo de estudo	N	Média	Desvio padrão	Média de erro padrão
Profundidade de sondagem (mm)	Emdogain®	54	1,50	1,851	,252
	Emdogain®+Enxerto ósseo	60	1,53	1,732	,224

Avaliando as diferenças de redução de profundidades de sondagem entre os dois grupos de doentes (Tabela 18), observou-se uma maior redução de profundidade de sondagem no grupo 1, sendo o valor máximo de 8mm.

Tabela 18 Valores médios e máximos de redução de profundidade de sondagem nos diferentes grupos de estudo e nas diferentes localizações sondadas.

Profundidade de sondagem (mm)	Emdogain®	Mesio-vestibular	Média	$1,56 \pm 1,333$
			Máximo	4
		Centro-vestibular	Média	$1,0 \pm 2,000$
			Máximo	6
		Disto-vestibular	Média	$2,00 \pm 1,658$
			Máximo	5
	Emdogain®+Enxerto	Mesio-lingual	Média	$,67 \pm 1,000$
			Máximo	3
		Centro-lingual	Média	$2,00 \pm 2,179$
			Máximo	7
		Disto-lingual	Média	$1,78 \pm 2,587$
			Máximo	8
	Emdogain®	Mesio-vestibular	Média	$2,70 \pm 1,889$
			Máximo	6
		Centro-vestibular	Média	$,90 \pm 1,101$
			Máximo	3
		Disto-vestibular	Média	$1,30 \pm 1,494$
			Máximo	5
	Emdogain®+Enxerto	Mesio-lingual	Média	$2,40 \pm 1,955$
			Máximo	6
		Centro-lingual	Média	$1,10 \pm 1,853$
			Máximo	6
		Disto-lingual	Média	$,80 \pm 1,317$
			Máximo	4



De forma a saber se o material de enxerto seria um fator que influenciaria a média da redução da profundidade de sondagem, aplicou-se o teste paramétrico t-Student. Deste teste foi possível concluir que não existiram diferenças estatisticamente significativas entre a diminuição da profundidade de sondagem e o material de regeneração utilizado, uma vez que a significância apresenta o valor de 0,921(T-Student) (Tabela 19).

Tabela 19 Teste t-Student para as diferenças das profundidades de sondagem entre os diferentes grupos de estudo.

		Teste de Levene para igualdade de variâncias		Teste-t para Igualdade de Médias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia média	Erro padrão da diferença	95% Intervalo de Confiança da diferença	
									Inferior	Superior
Profundidade de sondagem	Variâncias iguais assumidas	,006	,937	-,099	112	,921	-,033	,336	-,698	,632
	Variâncias iguais não assumidas			-,099	108,771	,921	-,033	,337	-,701	,634



#### IV. DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi avaliar clínica e radiograficamente os resultados obtidos através da regeneração periodontal de defeitos verticais infra-ósseos, através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), na prática clínica universitária, com um período de observação de 12 meses.

As PDME têm como principal constituinte as amelogeninas(Esposito et al., 2009). Estas são proteínas da matriz extracelulares, caracterizadas por serem um agente controlador da migração de grupos celulares, estabelecendo os locais onde as diferentes células irão aderir(Cochran & Wozney, 1999). Auxiliam o crescimento e diferenciação das células do ligamento periodontal, bem como dos cimentoblastos, enquanto que, simultaneamente, restringem a proliferação das células epiteliais para a zona da raiz, promovendo a regeneração periodontal(Kawase et al., 2000).

Uma vez que a regeneração óssea ocorre após um período mínimo de 6 meses(Lang, Hammerle, Bragger, Lehmann, & Nyman, 1994), os doentes foram avaliados 12 meses após a cirurgia periodontal regenerativa. Desta forma garantiu-se que os doentes já se encontravam num período clinicamente estável, e que já não iria haver qualquer distúrbio da fase de regeneração.

No que alude ao protocolo de medição das radiografias, estas foram efetuadas por um único observador devidamente calibrado. Este observador não esteve envolvido no processo cirúrgico, nem na medição das sondagens das bolsas dos dentes intervencionados.

A avaliação radiográfica deste estudo apresentou como limitação a calibragem das radiografias. Idealmente deveriam ter sido utilizados paralelizadores adaptados a cada doente, através da realização de blocos oclusais de mordida(Zangrando, Schutzer, Chambrone, Pasin, & Conde, 2014). Desta forma garantia-se uma direção da incidência radiográfica o mais semelhante possível em todas as radiografias.

O uso da técnica paralela(Bhutda & Deo, 2013), com recurso a paralelizadores, permite que a incidência radiográfica seja aproximadamente semelhante em cada radiografia.

Todas as cirurgias foram realizadas por Médicos Dentistas que frequentaram a Pós-graduação de Periodontologia ministrada na Clínica Dentária Egas Moniz. A técnica cirúrgica utilizada foi a recomendada pelo fabricante. Apesar da técnica cirúrgica ser igual em todos os casos, não foi realizada sempre pelo mesmo operador, podendo haver alguma variabilidade na manipulação dos materiais e dos tecidos.

As terapias periodontais regenerativas podem ser influenciadas por vários fatores. Os principais fatores capazes de influenciar os resultados clínicos da cirurgia periodontal regenerativa são os próprios doentes, o defeito ósseo e fatores associados à própria cirurgia (Cortellini & Tonetti, 2014).

O sucesso da terapia periodontal regenerativa, e a previsibilidade do tratamento está dependente de um diagnóstico correto da necessidade do tratamento, da técnica cirúrgica utilizada e da presença de fatores sistêmicos e comportamentais que não comprometam a cicatrização dos tecidos. Sendo assim, os doentes incluídos neste estudo não possuíam condições sistêmicas que pudessem influenciar a cicatrização ou a progressão da doença periodontal, idade superior ou igual a 18 anos, ausência de contraindicações para a cirurgia periodontal regenerativa, ausência de historial de cirurgia periodontal na região dentária envolvida e pacientes não fumadores.

Apesar de não terem sido incluídos pacientes fumadores, está comprovado que as terapias regenerativas em doentes fumadores, que consumam mais de 10 cigarros por dia, conduzem a resultados clínicos inferiores a nível de adesão periodontal, de uma forma dose dependente (Cortellini & Tonetti, 2014).

Não foram também incluídos pacientes que possuísem complicações endodônticas não tratadas, pelo facto de poderem influenciar a saúde dos tecidos em redor da raiz do dente, funcionando como um foco bacteriano e inflamatório.

Comparando as medições nas radiografias iniciais com as medições das radiografias pós-cirúrgicas (12 meses), foi possível inferir que houve evidência radiográfica de preenchimento ósseo do defeito infra-ósseo. A média da dimensão do defeito, medida na radiografia inicial, foi de  $9,26 \pm 1,996$  mm. Passados 12 meses, a média da dimensão do defeito infra-ósseo, medido na radiografia pós-cirúrgica passou para  $6,32 \pm 1,797$  mm. Esta observação vem a confirmar que existiu um ganho de preenchimento ósseo graças à regeneração periodontal com Emdogain® (Heijl, Heden, Svardstrom, & Ostgren, 1997; Zetterström et al., 1997; Francetti, Del Fabbro, Basso,

Testori, & Weinstein, 2004).

A média de preenchimento ósseo do defeito obtido através da terapia periodontal regenerativa com recurso apenas a Emdogain® foi de  $2,33 \pm 1,732\text{mm}$ . Heijl et al., 1997, reporta valores médios de ganho ósseo, através da terapia periodontal regenerativa com Emdogain®, de  $2,2 \pm 1,6\text{mm}$ , 16 meses depois da cirurgia periodontal regenerativa. Zetterström et al., 1997, descreve valores médios de ganho ósseo de  $1,2 \pm 1,1\text{mm}$ . Francetti et al., 2004, avaliou 24 indivíduos de ambos os sexos, divididos aleatoriamente em dois grupos, cada um com 12 membros. Todos os doentes foram avaliados aos 12 meses após a cirurgia periodontal regenerativa, tendo registado valores médios de ganho ósseo na ordem dos  $2,96 \pm 1,13\text{mm}$ , no grupo tratado com Emdogain®.

O valor médio de preenchimento ósseo, obtido pelo tratamento apenas com Emdogain®, no presente estudo ( $2,33 \pm 1,732\text{mm}$ ) está em concordância com os resultados obtido por Heijl et al., 1997 ( $2,2 \pm 1,6\text{mm}$ ), Zetterström et al., 1997 ( $1,2 \pm 1,1\text{mm}$ ) e Francetti et al., 2004 ( $2,96 \pm 1,13\text{mm}$ ). Estes autores estudaram amostras de doentes maiores (33, 140 e 24 doentes respetivamente) do que no presente estudo (13 doentes). Ainda assim os resultados obtidos estão em concordância.

Devido à viscosidade das PDME (Miron et al., 2014) e à possibilidade de um efeito sinérgico entre biomateriais (Li et al., 2012) tem-se estudado a combinação de PDME com matérias de enxerto ósseo. Verardi, 2010, realizou uma revisão da literatura existente até à data, concluindo que a adição de membranas e/ou materiais de enxerto ósseo às PDME não se traduzia em benefícios significativos no tratamento de defeitos periodontais.

Neste trabalho de investigação foram também recolhidos dados sobre os doentes tratados com Emdogain® conjugado com materiais de enxerto ósseo aloplástico (Osteon™, GenOss).

Vários estudos foram efetuados de forma a averiguar se a conjugação de PDME com enxertos ósseos aloplásticos resultaria em benefícios para a regeneração de defeitos infra-ósseos.

No presente estudo, a conjugação de Emdogain® com um material de enxerto ósseo aloplástico (Osteon™) resultou num ganho de preenchimento ósseo superior ao obtido no grupo tratado apenas com Emdogain®. O valor médio de preenchimento ósseo foi de  $3,50 \pm 1,269\text{mm}$ .

Kuru, Yılmaz, Argın, & Ülkü, 2006, após um período pós-operatório de 8 meses,

através da avaliação radiográfica, obteve um ganho médio de preenchimento ósseo de  $2,76 \pm 0,69$ mm, no grupo tratado com a mistura de materiais regeneradores (Emdogain® e enxerto ósseo aloplástico), enquanto que no grupo tratado apenas com Emdogain® o ganho médio de preenchimento ósseo foi de  $2,15 \pm 0,42$ mm, inferior ao do grupo anterior. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as duas modalidades de tratamento estudadas.

Jepsen et al., 2008, através de sondagem óssea, obteve um ganho ósseo médio de  $2,01 \pm 2,1$ mm no grupo de doentes tratados com Emdogain® conjugado com um material de enxerto ósseo aloplástico. No grupo de doentes tratados apenas com Emdogain® o ganho ósseo médio foi de  $2,07 \pm 1,2$ mm. As diferenças entre os resultados obtidos nas duas modalidades de tratamento foram estatisticamente significativas, favorecendo o grupo de teste ( $p < 0,001$ , teste-t).

Meyle et al., 2011, obteve um preenchimento médio do defeito de  $2,65 \pm 1,9$ mm, através da conjugação de PDME com um material de enxerto ósseo aloplástico. No grupo de doentes tratados apenas com PDME, o preenchimento médio do defeito foi de  $2,81 \pm 1,6$ mm. Os doentes foram avaliados após um período pós-operatório de 6 meses. Entre os dois grupos de doentes não foram encontradas diferenças significativas.

Contrariamente aos estudos de Kuru et al., 2006, e Jepsen et al., 2008, no presente estudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as duas modalidades de tratamento ( $p = 0,071$ , Mann-Whitney).

O resultado obtido através da comparação das médias de preenchimento ósseo obtidas no presente estudo, vão ao encontro do que foi constatado por Meyle et al., 2011, e Verardi, 2010, em que a adição de um material de enxerto ósseo às PDME não leva a resultados clínicos significativamente superiores aos obtidos na terapia apenas com PDME.

Segundo Steffensen & Weibert, 1989, efetuando apenas uma técnica cirúrgica com o retalho modificado de Widman, sem qualquer recontorno ósseo, e completo recobrimento do defeito infra-ósseo pelo reposicionamento do retalho, encontrou um maior potencial de preenchimento ósseo em defeitos ósseos com ângulos menores ( $< 45^\circ$ ) em comparação com defeitos ósseos com ângulos mais amplos ( $\geq 45^\circ$ ).

Para este estudo foram incluídos apenas pacientes cujo ângulo do defeito infra-ósseo fosse inferior ou igual a  $35^\circ$ , medido na radiografia inicial. Assim garantiu-se que

os doentes incluídos no estudo possuíam defeitos com elevado potencial de regeneração.

Quanto à influência do ângulo do defeito infra-ósseo nos resultados obtidos a nível de preenchimento ósseo do defeito, não foi possível encontrar correlação que indicasse que haveria influência do ângulo do defeito sobre o preenchimento ósseo do mesmo ( $p = -0,158$ ). Esta ausência de correlação entre o ângulo do defeito e o preenchimento ósseo do mesmo, vem corroborar a teoria de que defeitos infra-ósseos com conformações angulares menores têm maior potencial regenerador, visto que os ângulos dos defeitos em estudo se encontram na margem de elevado potencial regenerador proposto por Steffensen et al., 1989.

A idade do doente foi outra variável estudada com o objetivo de perceber se teria alguma influência na regeneração periodontal. Não foi possível correlacionar esta duas variável com o preenchimento ósseo do defeito. O valor do  $R$  de Spearman obtido foi de  $-0,158$ . Este valor, caso a correlação fosse obtida, indicaria que à medida que a idade do doente aumentava, menor seria o preenchimento ósseo do defeito periodontal.

De forma a melhor averiguar a influência da idade, poderia ser realizado um estudo prospetivo, em que fosse feito um cálculo da amostra mais abrangente. Seriam estudados dois grupos de doentes, um grupo constituído por doentes mais jovens e outro por doentes com idades mais avançadas. As diferenças ao nível dos defeitos infra-ósseos, entre os dois grupos de estudo, não poderiam ser significativas, de forma a minimizar a variabilidade entre os defeitos periodontais onde se pretende efetuar regeneração periodontal.

A forma como a mobilidade dentária influenciaria o preenchimento ósseo do defeito, foi outro fator estudado. Existe alguma controvérsia sobre o efeito da mobilidade dentária na terapia periodontal regenerativa (Kao, Nares, & Reynolds, 2015).

Trejo & Weltman, 2004, estudaram o efeito da mobilidade dentária sobre a terapia periodontal regenerativa. No seu estudo incluíram apenas dentes vitais, com grau de mobilidade  $\leq 2$ . Todos os dentes com mobilidade de grau 3, ou com necessidade de serem ferulizados foram excluídos. Concluíram que os defeitos infra-ósseos de dentes com mobilidade pré-operatória  $\leq 2$  respondiam favoravelmente à terapia periodontal regenerativa.

Nos casos em que a mobilidade aumentada se deve à diminuição do suporte

periodontal, a redução da mobilidade pode ser obtida através da ferulização do dente que apresenta mobilidade aumentada, aos dentes adjacentes. A ferulização está indicada caso a mobilidade do dente cause desconforto mastigatório ao doente (Nyman & Lang, 1994).

Cortellini, Stalpers, Mollo, & Tonetti, 2011, avaliaram os resultados obtidos pelo tratamento periodontal regenerador em dentes clinicamente classificados como “perdidos”, em alternativa à extração. Em 25 dentes estudados, 22 foram ferulizados previamente à cirurgia. Foram utilizadas várias técnicas de regeneração periodontal. O tratamento apenas com PDME foi utilizado em 10 dentes. A combinação de PDME com um material de enxerto ósseo foi utilizado em 5 dentes. Demonstraram que a regeneração periodontal pode alterar o prognóstico de dentes classificados como “perdidos”, uma vez que 92% (23 em 25) dos dentes em estudo permaneceram em função. Foram também registados ganhos de nível de inserção clínica de 7,7mm, 1 ano após a cirurgia periodontal regenerativa.

No presente estudo, não foi possível correlacionar a mobilidade dentária com o preenchimento ósseo dos defeitos ( $\rho=-0,330$ ). Foram, porém, registadas duas perdas dentárias, após a cirurgia periodontal regenerativa com recurso apenas a Emdogain®. Os dois dentes que foram extraídos após a cirurgia periodontal regenerativa, não foram ferulizados, e o motivo da extração foi o aumento da mobilidade dentária.

Outro objetivo do estudo foi avaliar a evolução da profundidade de sondagem após a realização do tratamento periodontal regenerador dos defeitos infra-ósseos.

As sondas periodontais são o instrumento de diagnóstico mais utilizado para avaliar a desinserção dos tecidos periodontais do dente (Armitage, Svanberg, & Löe, 1977).

Bhutda & Deo, 2013, avaliaram a profundidade de sondagem obtida pela regeneração com PDME, 12 meses após a cirurgia periodontal regenerativa. Foi obtida uma diminuição média da profundidade de sondagem de  $4,12 \pm 1,11$ mm.

Heijl et al., 1997, após cirurgia periodontal regenerativa com Emdogain®, reportou valores médios de diminuição da profundidade de sondagem de  $3,3 \pm 1,3$ mm, após um período pós-operatório de 8 meses. Zetterström et al., 1997, descreveu valores de diminuição da profundidade de sondagem médios de  $4,3 \pm 1,3$ mm.

No presente estudo o valor médio de diminuição da profundidade de sondagem no grupo de doentes tratados apenas com Emdogain® foi de  $1,50 \pm 1,85$ mm. Estes valores,



comparativamente com os valores obtidos nos estudos citados anteriormente, também refletem a diminuição da profundidade de sondagem após o tratamento peridontal regenerador.

Sculean, Pietruska, Arweiler, Ausschil, & Nemcovsky, 2007, avaliaram a profundidade de sondagem, em dois grupos de doentes. Um grupo de doentes foi tratado apenas com PDME, o outro foi tratado com PDME combinado com um material de enxerto aloplástico (vidro bioativo). Antes da cirurgia periodontal regenerativa, a profundidade de sondagem média era de  $8,6 \pm 1,0$ mm no grupo de doentes que iria ser tratado com PDME conjugadas com vidro bioativo, e  $8,6 \pm 0,9$ mm no grupo que iria ser tratado apenas com PDME. Um ano após a cirurgia, as médias de profundidade de sondagem evoluíram para  $4,1 \pm 1,0$ mm e  $3,9 \pm 0,6$ mm, respetivamente.

Jepsen et al., 2008, também a nível da profundidade de sondagem, verificou que no grupo de controlo (Emdogain®) a profundidade de sondagem média diminuiu  $1,93 \pm 1,8$ mm, enquanto que no grupo de teste (Emdogain® combinado com fosfato de cálcio bifásico) a diminuição da profundidade de sondagem média foi maior ( $2,55 \pm 1,8$ mm).

No presente estudo, o valor médio de diminuição da profundidade de sondagem no grupo de doentes tratado apenas com Emdogain® foi de  $1,50 \pm 1,851$ . No grupo de doentes tratados com Emdogain® combinado com o material de enxerto aloplástico (OSTEON™) foi de  $1,53 \pm 1,732$ mm. Estes valores indicam que as duas técnicas cirúrgicas estudadas, levam à redução da profundidade de sondagem do dente sujeito à cirurgia periodontal regenerativa. O mesmo aconteceu nos estudos anteriormente descritos. Sculean et al., 2007, com obtenção de profundidades de sondagem médias de  $4,1 \pm 1,0$ mm, no grupo tratado com PDME combinadas com vidro bioativo, e  $3,9 \pm 0,6$ mm no grupo tratado apenas com PDME. Jepsen et al., 2008 com um valor médio de diminuição da profundidade de sondagem de  $1,93 \pm 1,8$ mm no grupo tratado apenas com Emdogain®, e  $2,55 \pm 1,8$ mm no grupo tratado com Emdogain® combinado com fosfato de cálcio bifásico.

Para se perceber se a modalidade do tratamento regenerador influenciaria o resultado obtido na profundidade de sondagem, foi aplicado o teste t-Sudent. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as profundidades de sondagem obtidas nos dois grupos de estudo (0,921, teste-t). O mesmo aconteceu nos trabalhos de investigação de Sculean et al., 2007, e de Jepsen et al., 2008, em que também

não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades do tratamento regenerador estudadas.

## V. PERSPETIVAS FUTURAS

Durante a realização deste estudo foram encontradas algumas limitações a nível da obtenção de alguns dados clínicos. As limitações encontradas durante a realização do presente trabalho de investigação foram inerentes ao tipo de estudo (retrospectivo).

Enumeram-se de seguida as limitações do presente estudo:

### *1. Calibração das radiografias:*

Apesar de haver estudos que reportam apenas o uso da técnica paralela, com o uso do paralelizador radiográfico comum, sem blocos oclusais de mordida, não é possível garantir que a incidência radiográfica, ou que a posição em que o paralelizador é colocado na cavidade oral, é reproduzida ao máximo entre a radiografia inicial e a radiografia de controlo pós-operatório. Desta forma é possível que haja alguma distorção entre a radiografia inicial e de controlo pós-operatório.

### *2. Medição da profundidade de sondagem*

As medições das profundidades de sondagem foram obtidas a partir dos registos presentes nos periodontogramas, efetuados nas consultas de diagnóstico periodontal e de controlo, pelos alunos de Medicina Dentária da Clínica Dentária Egas Moniz.

Os alunos que realizaram as consultas diagnóstico periodontal e de controlo não foram calibrados para realizar as medições das profundidades de sondagem. Desta forma não é possível garantir uma padronização na obtenção das medições e um erro padrão constante. Apesar disso, as profundidades de sondagem e todos os parâmetros da ficha clínica do periodontograma são sempre controlados e confirmados pelos professores do departamento de Periodontologia. Os parâmetros clínicos e radiográficos são sempre novamente confirmados na consulta da Pós-graduação de Periodontologia previamente à realização da cirurgia periodontal regenerativa. Desta forma, consegue-se evitar possíveis erros de medição dos parâmetros analisados.

### *3. Recessão gengival*

A recessão gengival foi um parâmetro que não foi incluído neste estudo, uma vez que a sua obtenção não foi considerada fiável.

Nos periodontogramas utilizados na prática clínica, na Clínica Dentária Egas Moniz, a recessão gengival é indicada por meio de uma linha que simboliza a margem

gingival, relativamente à JAC. Como esta também foi realizada por alunos que não foram calibrados para a realização deste estudo, não é possível garantir que o erro, inerente a cada medição, é padronizado e reduzido ao máximo.

O nível de inserção clínico é obtido pela soma do valor da profundidade de sondagem e o valor da recessão gengival. Pelo facto de não se ter considerado a recessão gengival, não é possível tirar conclusões relativamente ao nível de inserção clínico. Sendo esta outra limitação do presente estudo.

Tendo em conta as limitações anteriormente descritas, a forma como estas poderiam ser evitadas, ou minimizadas, seria através da adaptação do protocolo utilizado para um estudo prospetivo, o qual implicaria o acompanhamento dos doentes incluído no estudo desde o período pré-operatório. Desta forma a obtenção de todos os dados seria efetuada por um observador calibrado. O facto de haver um observador calibrado para a obtenção e registo dos dados implicaria um erro padrão constante.

O protocolo ideal sugerido para um estudo prospetivo, com o objetivo de avaliar clínica e radiograficamente os resultados obtidos através da regeneração de defeitos verticais infra-ósseos, através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), na prática clínica universitária, com um período de observação de 12 meses, encontra-se descrito seguidamente:

Os critérios de inclusão e de exclusão seriam os mesmos utilizados no estudo retrospectivo, alterando-se apenas o protocolo de obtenção de alguns dados clínicos que seriam estudados.

#### *Registos radiográficos*

Antes da realização da cirurgia periodontal regenerativa, seria confeccionado um registo oclusal de mordida, de forma a personalizar os paralelizadores radiográficos para cada doente incluído no estudo. A realização do registo de mordida iria permitir a colocação do paralelizador radiográfico sempre na mesma posição, no interior da cavidade oral, visto que o molde encaixaria nos dentes de cada doente. Este paralelizador radiográfico personalizado, seria guardado, de forma a identificar o paciente a quem pertence, e utilizado para a realização de todas as radiografias, inicial e pós-operatória.

As medições radiográficas seriam efetuadas sempre pelo mesmo observador calibrado, com o mesmo material de medição. Desta forma o erro padrão seria constante.

### *Profundidade de sondagem e Margem gengival*

As profundidades de sondagem, iniciais e pós-operatórias, seriam obtidas sempre pelo mesmo observador calibrado. As profundidades de sondagem iniciais e pós-operatórias, seriam registadas em 6 localizações em redor do dente associado ao defeito infra-ósseo (Mesial, Centro e Distal, por vestibular e lingual).

A margem gengival, inicial e pós-operatória, seria também registada sempre pelo mesmo observador calibrado, 6 localizações em redor do dente associado ao defeito infra-ósseo. Porém, o registo da margem gengival seria feito através de valores numéricos, permitindo uma comparação mais precisa entre a recessão inicial e pós-operatória.

### *Técnica cirúrgica*

A técnica cirúrgica empregue seria a mesma, e realizada da mesma forma como no estudo retrospectivo. As cirurgias periodontais regenerativas seriam efetuadas por Médicos Dentistas que se encontrem a frequentar a Pós-graduação de Periodontologia.

Seria interessante alargar o período de registo pós-operatório, com o propósito de averiguar se os resultados obtidos pela cirurgia periodontal regenerativa são mantidos ao longo do tempo. Desta forma sugere-se que a avaliação clínica e radiográfica seja feita 12, 18 e 24 meses após a realização da cirurgia periodontal regenerativa.



## VI. CONCLUSÃO

Para este estudo foram estabelecidas as seguintes hipóteses de desfecho:

- Hipótese Nula (H0) - A regeneração de defeitos infra-ósseos verticais periodontais através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) não apresentou resultados clínicos e radiográficos satisfatórios e o ganho de inserção clínico obtido não é mantido a longo-prazo;
- Hipótese Teste (H1) - A regeneração de defeitos infra-ósseos verticais periodontais através da aplicação de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) apresenta resultados clínicos e radiográficos satisfatórios e o ganho de inserção clínico obtido é mantido a longo-prazo.

Os resultados obtidos no presente trabalho de investigação suportam a Hipótese Teste. Tanto o tratamento periodontal regenerador apenas com recurso a Emdogain®, como o tratamento com recurso a Emdogain® combinado com OSTEON™ resultaram em melhorias no estado periodontal clínico e radiográfico dos dentes com defeitos infra-ósseos verticais associados.

Apesar de não ter sido avaliado o nível de inserção clínico, sendo esta uma limitação deste estudo, foi possível encontrar uma diminuição da profundidade de sondagem dos dentes submetidos à cirurgia periodontal regenerativa.

Os resultados clínicos e radiográficos obtidos foram satisfatórios. Tendo em conta outros estudos análogos a este, em que os valores obtidos coligiram com os de outros investigadores foram semelhantes aos resultados obtidos nesta investigação.

Todos os estudos semelhantes a este, que foram analisados, reconhecem que tanto o tratamento periodontal regenerador apenas com Emdogain®, como o tratamento periodontal regenerador em que se combinou Emdogain® com um material de enxerto ósseo aloplástico, resultam em melhorias do estado periodontal dos dentes associados a defeitos infra-ósseos verticais, quando comparado com a situação inicial.

Porem, continua a duvida se o tratamento periodontal regenerador em que se combinou Emdogain® com um material de enxerto ósseo aloplástico, resulta em melhorias estatisticamente significativas, quando comparado com o tratamento periodontal regenerador em que apenas é utilizado Emdogain®.

Neste estudo não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as duas modalidades de tratamento. Este resultado é comum à grande parte da literatura. Ainda assim mais estudos necessitam de ser feitos com amostras de estudo de maiores dimensões, de forma a perceber-se melhor se a terapia combinada de PDME com materiais de enxerto ósseo proporcionam benefícios acrescidos.



## VII. BIBLIOGRAFIA

- Albandar, J. M., & Rams, T. E. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases : an overview. *Periodontology 2000*, 29, 7–10.
- Armitage, G. C., Svanberg, G. K., & Löe, H. (1977). Microscopic evaluation of clinical measurements of connective tissue attachment levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 4(3), 173–190. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1977.tb02271.x>
- Arweiler, N., Donos, T., & Sculean, A. (2002). Antibacterial effect of an enamel matrix protein derivative on in vivo dental biofilm vitality. *Clinical Oral Investigations*, 6, 205–209. <https://doi.org/10.1007/s00784-002-0185-0>
- Ashkenazi, M., & Shaked, I. (2006). In vitro clonogenic capacity of periodontal ligament fibroblasts cultured with Emdogain. *Dental Traumatology*, 22, 25–29.
- Aspriello, S. D., Ferrante, L., Rubini, C., & Piemontese, M. (2011). Comparative study of DFDBA in combination with enamel matrix derivative versus DFDBA alone for treatment of periodontal intrabony defects at 12 months post-surgery. *Clinical Oral Investigations*, 15(2), 225–232. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0369-y>
- Bartold, P. M., McCulloch, C. A. G., Narayanan, S. A., & Pitaru, S. (2000). Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontology 2000*, 24, 253–269. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240113.x>
- Bhutda, G., & Deo, V. (2013). Five years clinical results following treatment of human intra-bony defects with an enamel matrix derivative: A randomized controlled trial. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71, 764–770. <https://doi.org/10.3109/00016357.2012.728245>
- Bosshardt, D. (2008). Biological mediators and periodontal regeneration : a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 87–105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01264.x>
- Boyan, B. D., Weesner, T. C., Lohmann, C. H., Andreacchio, D., Carnes, D. L., Dean, D. D., ... Schwartz, Z. (2000). Porcine Fetal Enamel Matrix Derivative Enhances Bone Formation Induced by Demineralized Freeze Dried Bone Allograft In Vivo. *Journal of Periodontology*, 71(8), 1278–1286. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.8.1278>
- Bratthall, G., Lindberg, P., Holmström, P., & Bay, L. (2001). Comparison of ready-to-use EMDOGAIN® -gel and EMDOGAIN® in patients with chronic adult periodontitis

- A multicenter clinical study. *J Clin Periodontol*, 28, 923–929.
- Carinci, F., Piattelli, A., Guida, L., Perrotti, V., Laino, G., Oliva, A., ... Pezzetti, F. (2006). Effects of Emdogain on osteoblast gene expression. *Oral Diseases*, 12, 329–342. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01204.x>
- Cattaneo, V., Rota, C., Silvestri, M., Piacentini, C., Forlino, A., Gallanti, A., & Rasperini, G. (2003). Effect of enamel matrix derivative on human periodontal fibroblasts : proliferation , morphology and root surface colonization . An in vitro study. *J Periodont Res*, 38, 568–574.
- Cochran, L., & Wozney, J. (1999). Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol 2000*, 19, 40–58.
- Cortellini, P. (2012). Minimally invasive surgical techniques in periodontal regeneration. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12, 89–100. [https://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70021-0](https://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70021-0)
- Cortellini, P., Prato, G. P., & Tonetti, M. S. (1995). Periodontal Regeneration of Human Intrabony Defects With Titanium Reinforced Membranes. A Controlled Clinical Trial. *J Periodontol*, 66(9), 797–803.
- Cortellini, P., Stalpers, G., Mollo, A., & Tonetti, M. S. (2011). Periodontal regeneration versus extraction and prosthetic replacement of teeth severely compromised by attachment loss to the apex: 5-year results of an ongoing randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(10), 915–924. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01768.x>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2007). A minimally invasive surgical technique with an enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intra-bony defects: A novel approach to limit morbidity. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(1), 87–93. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01020.x>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2009). Improved wound stability with a modified minimally invasive surgical technique in the regenerative treatment of isolated interdental intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(2), 157–163. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01352.x>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2014). Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects Evidence for clinical efficacy and effectiveness. *Periodontology 2000*, 65, 1–27. <https://doi.org/10.1111/prd.12048>
- Esposito, M., Mg, G., Papanikolaou, N., Coulthard, P., & Hv, W. (2009). Enamel matrix derivative ( Emdogain ® ) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects (

- Review ). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4).  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD003875.pub3>
- Francetti, L., Del Fabbro, M., Basso, M., Testori, T., & Weinstein, R. (2004). Enamel matrix proteins in the treatment of intra-bony defects A prospective 24-month clinical trial. *J Clin Periodontol*, 31, 52–59.
- Gestrelus, S., Andersson, C., Johansson, a C., Persson, E., Brodin, A., Rydhag, L., & Hammarström, L. (1997). Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 678–684. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00249.x>
- Goldman, H. M., & Cohen, W. (1957). The infrabony Pocket: classification and treatment. *Journal of Periodontology*, 29(4), 272–291.  
<https://doi.org/10.1902/jop.1958.29.4.272>
- Gurinsky, B. S., Mills, M. P., & Mellonig, J. T. (2004). Clinical Evaluation of Demineralized Derivative Alone for the Treatment of Periodontal Osseous Defects in Humans. *The Journal of Periodontology*, 75(October), 1309–1318.  
<https://doi.org/10.1902/jop.2008.080259>
- Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R. L., Socransky, S. S., ... Socransky, S. S. (1997). The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(5), 324–34. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2000.027001030.x>
- Hammarstrom, L. (1997). Effect of an enamel matrix protein derivative (EmdogainA) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol*, 24, 658–668.
- Heijl, L., Heden, G., Svardstrom, G., & Ostgren, A. (1997). Enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of intrabony periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9), 705–714. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00253.x>
- Iorio-siciliano, V., Andreuccetti, G., Blasi, A., Matarasso, M., Sculean, A., & Salvi, G. E. (2014). Regenerative Therapy of Non-Contained Intrabony Defects Using a Deproteinized Bovine Bone Mineral Combined With Collagen Membrane. *J Periodontol*, 85(10), 1342–1350. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.130420>
- Jepsen, S., Topoll, H., Rengers, H., Heinz, B., Teich, M., Hoffmann, T., ... Jervøe-Storm, P.-M. (2008). Clinical outcomes after treatment of intra-bony defects with an EMD/synthetic bone graft or EMD alone: A multicentre randomized-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(5), 420–428.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01217.x>

- Kao, R. T., Nares, S., & Reynolds, M. A. (2015). Periodontal Regeneration – Intrabony Defects: A Systematic Review From the AAP Regeneration Workshop. *Journal of Periodontology*, 86(2–s), S77–S104. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.130685>
- Kawase, T., Okuda, K., Yoshie, H., & Burns, D. M. (2000). Cytostatic action of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) on human oral squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells. *Journal of Periodontal Research*, 35(5), 291–300.
- Kuru, B., Yilmaz, S., Argın, K., & Ülkü, N. (2006). Enamel matrix derivative alone or in combination with a bioactive glass in wide intrabony defects. *Clinical Oral Investigations*, 10(3), 227–234. <https://doi.org/10.1007/s00784-006-0052-5>
- Lang, N. P., Hammerle, C. H., Bragger, U., Lehmann, B., & Nyman, S. R. (1994). Guided tissue regeneration in jawbone defects prior to implant placement. *Clinical Oral Implants Research*, 5(2), 92–97. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.1994.050205.x>
- Lekovic, V., Camargo, P. M., Weinlaender, M., Nedic, M., Aleksic, Z., & Kenney, E. B. (2000). A Comparison Between Enamel Matrix Proteins Used Alone or in Combination With Bovine Porous Bone Mineral in the Treatment of Intrabony Periodontal Defects in Humans. *J Periodontol*, 71(7), 1110–1116. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2000.027012889.x>
- Li, W., Xiao, L., & Hu, J. (2012). The use of enamel matrix derivative alone versus in combination with bone grafts to treat patients with periodontal intrabony defects A meta-analysis. *The Journal of the American Dental Association*, 143(9), e46–e56. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2012.0327>
- Lyngstadaas, S., Lundberg, E., Ekdahl, H., Andersson, C., & Gestrelus, S. (2001). Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, 181–188.
- Matarasso, M., Blasi, A., Ramaglia, L., Salvi, G. E., & Sculean, A. (2015). Enamel matrix derivative and bone grafts for periodontal regeneration of intrabony defects . A systematic review and meta-analysis. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1491-7>
- Melcher, A. H. (1976). On the Repair Potential of Periodontal Tissues. *Journal of Periodontology*, 47(5), 256–260. <https://doi.org/10.1902/jop.1976.47.5.256>
- Meyle, J., Hoffmann, T., Topoll, H., Heinz, B., Al-Machot, E., Jervøe-Storm, P.-M., ... Jepsen, S. (2011). A multi-centre randomized controlled clinical trial on the

- treatment of intra-bony defects with enamel matrix derivatives/synthetic bone graft or enamel matrix derivatives alone: Results after 12 months. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(7), 652–660. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01726.x>
- Miron, R. J., Guillemette, V., Zhang, Y., Chandad, F., & Sculean, A. (2014). Enamel matrix derivative in combination with bone grafts: A review of the literature. *Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)*, 45(6), 475–87. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a31541>
- Mueller, V. T., Welch, K., Bratu, D. C., & Wang, H. L. (2013). Early and late studies of EMD use in periodontal intrabony defects. *Journal of Periodontal Research*, 48(1), 117–125. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01510.x>
- Nyman, S. R., & Lang, N. P. (1994). Tooth mobility and the biological rationale for splinting teeth. *Periodontology 2000*, 4(1), 15–22. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1994.tb00002.x>
- Papapanou, P. N., & Tonetti, M. S. (2000). Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontology 2000*, 22, 8–21. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2220102.x>
- Periodontology, T. A. A. of. (2001). *Glossary of Periodontal Terms*. (The American Academy of Periodontology, Ed.), *The Journal of periodontology* (4th Editio). Chicago, Illinois: Journal of Periodontology. <https://doi.org/10.1902/jop.1999.70.12.1575>
- Pietruska, M., Pietruski, J., Nagy, K., Brex, M., Arweiler, N. B., & Sculean, A. (2012). Four-year results following treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix derivative alone or combined with a biphasic calcium phosphate. *Clinical Oral Investigations*, 16(4), 1191–1197. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0611-2>
- Pihlstrom, B. L., McHugh, R. B., Oliphant, T. H., & Ortiz-Campos, C. (1983). Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 10(5), 524–541. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2009.10.003>
- Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809–1820. [https://doi.org/S0140-6736\(05\)67728-8](https://doi.org/S0140-6736(05)67728-8) [pii]r10.1016/S0140-6736(05)67728-8
- Rabbani, G. M., Ash, M. M., & Caffesse, R. G. (1981). The effectiveness of subgingival

- scaling and root planing in calculus removal. *The Journal of Periodontology*, 52(3), 119–123. <https://doi.org/10.1902/jop.1981.52.3.119>
- Sculean, A., Auschill, T., Donos, N., Brex, M., & Arweiler, N. (2001). Effect of an enamel matrix protein derivative (Emdogain®) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol*, 28, 1074–1078.
- Sculean, A., Pietruska, M., Arweiler, N., Auschill, T., & Nemcovsky, C. (2007). Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intrabony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *J Clin Periodontol*, 34(6), 507–513. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01084.x>
- Sgolastra, F., Severino, M., Petrucci, A., Gatto, R., & Monaco, A. (2014). Effectiveness of metronidazole as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontal Research*, 49(1), 10–19. <https://doi.org/10.1111/jre.12089>
- Siciliano, V. I., Andreuccetti, G., Siciliano, A. I., Blasi, A., Sculean, A., & Salvi, G. E. (2011). Clinical Outcomes After Treatment of Non-Contained Intrabony Defects With Enamel Matrix Derivative or Guided Tissue Regeneration: A 12-Month Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 82(1), 62–71. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100144>
- Spahr, A., Lyngstadaas, S. P., Boeckh, C., Andersson, C., Podbielski, A., & Haller, B. (2002). Effect of the enamel matrix derivative Emdogain on the growth of periodontal pathogens in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(1), 62–72. <https://doi.org/290110> [pii]
- Steffensen, B., & Webert, H. P. (1989). Relationship between the radiographic periodontal defect angle and healing after treatment. *The Journal of Periodontology*, 60(5), 248–254. <https://doi.org/10.1902/jop.1989.60.5.248>
- Straumann®. (2015). The Single Flap Approach in combination with Straumann® Emdogain® for the treatment of intrabony defects. Retrieved from [http://www.straumann.com/content/dam/media-center/straumann/en/documents/brochure/technical-information/490.117-en\\_low.pdf](http://www.straumann.com/content/dam/media-center/straumann/en/documents/brochure/technical-information/490.117-en_low.pdf)
- Streuli, C. H., Schmidhauser, C., Kobrin, M., Bissell, M. J., & Derynck, R. (1993). Extracellular matrix regulates expression of the TGF-beta 1 gene. *J Cell Biol*, 120(1), 253–260. <https://doi.org/10.1083/jcb.120.1.253>

- Tonetti, M. S., Fourmoussis, I., Suvan, J., Cortellini, P., Brägger, U., & Lang, N. P. (2004). Healing, post-operative morbidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(12), 1092–1098. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00615.x>
- Tonetti, M. S., Prato, G. P., & Cortellini, P. (1996). Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(6), 548–56. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1996.tb01823.x>
- Trejo, P. M., & Weltman, R. L. (2004). Favorable periodontal regenerative outcomes from teeth with presurgical mobility: a retrospective study. *Journal of Periodontology*, 75(11), 1532–8. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.11.1532>
- Trombelli, L., Annunziata, M., Belardo, S., Farina, R., Scabbia, A., & Guida, L. (2006). Autogenous bone graft in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of deep periodontal intra-osseous defects: A report of 13 consecutively treated patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(1), 69–75. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00865.x>
- Verardi, S. (2010). The use of a membrane and/or a bone graft may not improve the effects of enamel matrix derivatives in infrabony defects. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 10, 228–229. [https://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70024-6](https://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70024-6)
- Yilmaz, S., Cakar, G., Yildirim, B., & Sculean, A. (2010). Healing of two and three wall intrabony periodontal defects following treatment with an enamel matrix derivative combined with autogenous bone. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(6), 544–550. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01567.x>
- Zangrando, R., Schutzer, M., Chambrone, D., Pasin, I. M., & Conde, M. C. (2014). Two-year randomized clinical trial of enamel matrix derivative treated infrabony defects : radiographic analysis. *BMC Oral Health*, 14, 1–8.
- Zetterström, O., Andersson, C., Eriksson, L., Fredriksson, a, Friskopp, J., Heden, G., ... Gestrelus, S. (1997). Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9 Pt 2), 697–704. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00252.x>
- Zucchelli, G., Amore, C., Montebugnoli, L., & De Sanctis, M. (2003). Enamel matrix proteins and bovine porous bone mineral in the treatment of intra bony defects: a comparative controlled clinical trial. *J Periodontal*, 74(December), 1725–1735. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.12.1725>

